

Aus dem Physiologischen Institut
der

Johannes Gutenberg - Universität Mainz

Direktoren: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. G. Thews
Professor Dr. med. R. von Baumgarten

Die polarographische Messung des Sauerstoffpartialdruckes mit Mikroelektroden
Untersuchung der methodischen Voraussetzungen für die Anwendung in vivo

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der

Johannes Gutenberg - Universität Mainz

vorgelegt von

Wolfgang Krell
aus Eichenau

MAINZ 1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Physiologischen Institut
der

Johannes Gutenberg - Universität Mainz

Direktoren: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. G. Thews
Professor Dr. med. R. von Baumgarten

Die polarographische Messung des Sauerstoffpartialdruckes mit Mikroelektroden
Untersuchung der methodischen Voraussetzungen für die Anwendung in vivo

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Johannes Gutenberg - Universität Mainz

vorgelegt von

Wolfgang Krell

aus Eichenau

MAINZ 1972



Dekan: Professor Dr. med. A. Mayet
Referent: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. G. Thews
Korreferent : Professor Dr. med. Dr. rer. nat. J. Grote
Tag der mündlichen Prüfung:

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	1
TEIL I: Methodische Voraussetzungen für die Messung des lokalen	
O_2 - Druckes im Gewebe	3
B. THEORETISCHE GRUNDLAGEN	3
C. METHODIK DER P_{O_2} - MESSUNG MIT MIKROELEKTRODEN	4
1) Anforderungen an die Elektroden	4
2) Konstruktion der Elektrode	5
3) Versuchsaufbau und Verstärker	6
4) Versuchsdurchführung	7
a) Aufnahme der Polarogramme	8
b) Reproduzierbarkeit der Meßwerte	8
c) Konstanz der Meßwerte	8
d) Einfluß der Konvektion	9
e) Registrierung der Einstellzeit	10
f) Messung des pH-Einflusses	11
g) Temperatureinfluß auf die Meßwerte	11
h) Das Meßverhalten membranbezogener Elektroden in gewebsähnlichen Medien	11
D. ERGEBNISSE	12
1) Eichverhalten der Elektroden	12
a) Polarogrammeigenschaften von Mikroelektroden	12
b) Reproduzierbarkeit der Meßwerte	13
c) Langzeitkonstanz	14

2) Auswirkungen des Membranbezuges auf die Elektroden- eigenschaften	15
a) Die Konvektionsabhängigkeit von membranbezogenen Elektroden	15
b) Die Einstellzeit blanker und mit Primal AC 35 bezogener Goldmikroelektroden	16
3) Einflüsse des Meßmediums auf den Diffusionsgrenzstrom von membranbezogenen Goldmikroelektroden	17
a) Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes vom pH - Wert des Meßmediums	17
b) Einfluß der Temperatur auf das Meßergebnis	18
c) Eichung in gewebsähnlichen Medien	18
E. DISKUSSION zu TEIL I	20
Schlußfolgerungen	24
TEIL II: DER EINFLUSS DER O_2 - TRANSPORTBESTIMMENDEN KOEFFIZIENTEN (DIFFUSIONS-, LEITFÄHIGKEITS-, LÖSLICHKEITSKOEFFIZIENTEN) AUF DEN DIFFUSIONS- GRENZSTROM	26
A. THEORETISCHE GRUNDLAGEN	26
B. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	28
C. AUSWERTUNG DER VERSUCHE	29
D. ERGEBNISSE	30
E. DISKUSSION zu TEIL II	31
ZUSAMMENFASSUNG	34
LITERATUR	

A. Einleitung

Die Entwicklung unserer Kenntnisse über die Sauerstoffversorgung des Gewebes läßt zwei Abschnitte erkennen. Bereits vor über einhundert Jahren wurden die Diffusionsgesetze von dem Würzburger Physiologen FICK in der heute noch gültigen Form angegeben und fanden früh ein weites Anwendungsgebiet in der Physik und der Physikalischen Chemie. Seit den berühmten Arbeiten KROGH's (1904 - 1919) waren die Diffusionsvorgänge in der belebten Natur in zunehmendem Maße Gegenstand der theoretischen und experimentellen Forschung. Ausgehend von den Gasaustauschvorgängen im Skelettmuskel mit einer theoretischen Ermittlung der Sauerstoffdruckverteilung in einem Gewebszylinder (KROGH, 1918 / 1919), wurden im Laufe der Zeit die Gasaustauschvorgänge für Herz, Lunge, Gehirn und das Blut untersucht (zusammenfassende Darstellungen: A. V. HILL, 1928; ROUGHTON, 1932; JACOBS, 1935; OPITZ und SCHNEIDER, 1950; KREUZER, 1953; THEWS, 1953, 1960, 1963).

Während in der ersten Phase die Verteilung des O_2 - Druckes (P_{O_2}) im Gewebe unter Zugrundelegung der bekannten Größen errechnet wurde, leitete die Entwicklung geeigneter P_{O_2} - Mikroelektroden (WOLBARSH et al., 1960; CATER und SILVER, 1961; FATT, 1964; GULD, 1964; WHALEN et al., 1967) einen zweiten Abschnitt ein. Nach Vervollkommen dieser Meßmethoden konnte nun erstmals die Verteilung des Gewebes - P_{O_2} im Gewebe direkt gemessen werden (CATER, 1963; SILVER, 1965, 1966; KUNZE, 1966; WHALEN, 1967; LÜBBERS, 1968). Dabei ergab sich eine neue Betrachtungsweise der O_2 - Versorgung des Gewebes, zumal die gemessenen Werte im Durchschnitt unter den früher theoretisch ermittelten lagen. Eingehendere Untersuchungen erwiesen sich als unbedingt notwendig, scheiterten aber zum Teil an der komplizierten Methodik und an mangelnder Kenntnis über die Grundbedingungen und Voraussetzungen für eine absolute Aussage. Ansätze zu einer Bearbeitung der theoretischen Grundlagen für die Methodik stammen von LÜBBERS (1962), WHALEN (1967) und GRUNEWALD (1971).

In den vorliegenden, in zwei Abschnitte zu unterteilenden Untersuchungen haben wir, auf diesen Arbeiten aufbauend, die Meß- und Anwendungsmöglichkeiten von P_{O_2} - Mikroelektroden untersucht:

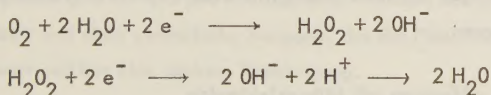
- 1) Es wurden auf der Basis von in Glas ausgezogenen feinsten Golddrähten einfach herstellbare Mikroelektroden entwickelt, mit deren Hilfe der Sauerstoffpartialdruck im Mikrobereich polarographisch gemessen werden kann. Die Elektroden waren in verschiedenen Versuchsgängen auf ihre Meßgenauigkeit und die Abhängigkeit der Eichkurven vom Medium zu untersuchen. Auf dieser Basis ließen sich die Bedingungen und Grundvoraussetzungen für eine absolute Messung im Gewebe ermitteln.
- 2) Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der zeitlichen Einstellung der Elektroden, die von den Diffusionseigenschaften in dem die Elektrode umgebenden Medium abhängig ist. Das heißt aber, daß entsprechend aus der Einstellcharakteristik auch Rückschlüsse auf die Diffusionskonstanten des Mediums gezogen werden können. Die Möglichkeiten zur Anwendung der Mikroelektroden für Diffusionskonstantenmessungen wurden auf dieser Basis untersucht.

TEIL I : Methodische Voraussetzungen für die Messung des lokalen O_2 - Druckes im Gewebe

B. Theoretische Grundlagen

Die elektrochemische Sauerstoffmessung mit Metallelektroden in Elektrolytlösungen ist seit dem Ende des 19. Jahrhunderts bekannt. Die Messung beruht auf dem polarographischen Meßprinzip und kann grundsätzlich mit allen Edelmetallen und Metalllegierungen durchgeführt werden, die das Phänomen der Überspannung (Polarisation) in Elektrolyten aufweisen (Platin, Gold, Goldamalgam, Nickel, Silber, u. a.).

Das Prinzip der Messung beruht darauf, daß sich bei dem Eintauchen eines edlen Metalles in eine Elektrolytlösung an der Kontaktfläche eine Grenzschicht ausbildet, die beim Anlegen einer negativen Spannung den freien Übertritt von Elektronen in die Lösung verhindert. Dadurch kommt es zu einer Aufladung der Metalloberfläche mit Elektronen und über die Grenzschicht zu einem Potentialgefälle, das der angelegten Spannung entspricht. Befinden sich in der Lösung Moleküle einer elektrochemisch neutralen Substanz, z. B. Sauerstoff, so können diese, sobald sie in die Grenzschicht diffundiert sind, bei einer geeigneten Elektrodenspannung als Elektronen-acceptoren dienen. Die Moleküle werden dabei reduziert. Die Reduktion erfolgt in mehreren Stufen, deren Summengleichung für Sauerstoff folgendermaßen lautet (KOLTHOFF und LINGANE, 1952):



Die bei diesem Prozess verbrauchten Elektronen fließen auf die Metalloberfläche nach, und der dadurch hervorgerufene Strom kann gemessen werden. Die indifferente Gegenelektrode sollte unpolarisierbar sein, damit können hier die Elektronen ungehindert passieren. Grundsätzlich können als indifferente Elektrode

alle Metalle verwendet werden, die weniger edel sind als die für die Meß-
elektrode verwendeten, z. B. Zink, Eisen, Blei. Am geeignetsten sind Elektroden,
die eine Transferschicht für den Übertritt der Elektronen aus dem Meßmedium in das
Metall an der Oberfläche aufweisen. Diese besteht aus einem Salz des Metalls mit
einer Base der Lösung (Quecksilber - Kalomel, Silber - Silberchlorid, usw.).

Der im Elektrodenstromkreis gemessene Strom ist in charakteristischer
Weise von der angelegten Spannung, der zu reduzierenden Substanz und der Art
des als Elektrode verwendeten Metalls abhängig. Nimmt man für Sauerstoff die
Stromspannungskurve auf (Abb. 1), so schließt sich an einen anfänglich sehr steilen
Abschnitt, bei einer angelegten Spannung von -550 mV (Platin) bis -1050 mV (Gold),
ein fast steigungsloser Kurventeil an, das sogenannte Plateau. Wird die Spannung
über diesen Bereich, der etwa 350 mV (Platin) bis 500 mV (Gold) umfaßt, erhöht, so
steigt der Stromfluß wieder steil an.

Im Bereich des Plateaus erzeugt eine Erhöhung der angelegten Spannung keine
weitere wesentliche Erhöhung des Stromflusses, weil alle sich an der Elektrodenober-
fläche befindenden O_2 - Moleküle momentan reduziert werden. Der Stromfluß in
diesem Bereich ist allein von der O_2 - Nachdiffusion an die Elektrodenoberfläche
abhängig, die der Sauerstoffkonzentration in der Lösung proportional ist. Dieser Strom
wird als Diffusionsgrenzstrom bezeichnet. Damit ist der Stromfluß im Plateaubereich
der Sauerstoffkonzentration in der Lösung proportional, d.h.: Man erhält bei Messung
des Stromflusses in Lösungen mit verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken im Plateau-
bereich lineare Eichkurven.

C. Methodik der P_{O_2} - Messung mit Mikroelektroden

1) Anforderungen an die Elektroden:

Bei Messungen im Gewebe werden an die verwendeten Elektroden folgende
Anforderungen gestellt:

Die Elektroden müssen so klein sein, daß keine nennenswerten Zerstörungen der unter-
suchten biologischen Strukturen vorkommen. Die Elektroden sollen die Zellmembranen

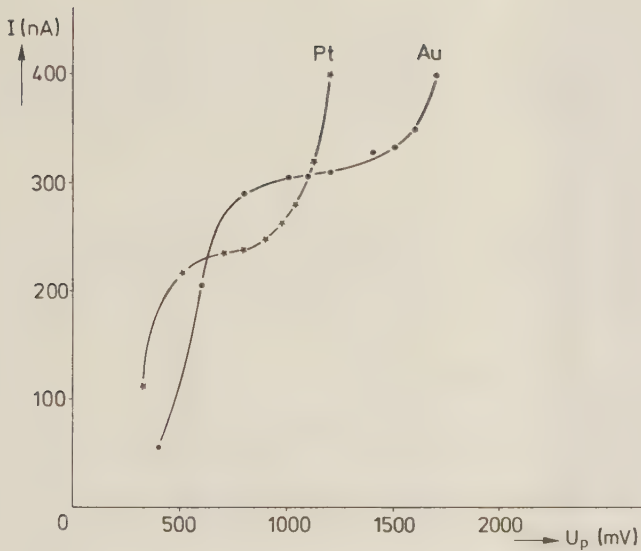


Abb. 1: Polarogramme von blanken Gold- und Platinelektroden in 0,2 mol KCl - Lösung.

Die Ordinate gibt den Diffusionsgrenzstrom in nA, die Abszisse die angelegte Spannung in mV an. Das Polarogramm - Plateau der Goldelektroden (Punkte) ist breit und ohne wesentliche Steigung, das der Platinelektrode (Sterne) weniger breit und hat eine stärkere Reststeigung.

durchdringen ohne die Zellen zu zerstören. Weiterhin muß gefordert werden, daß der bei der Messung im Gewebe verbrauchte Sauerstoff äußerst gering ist und damit keine wesentliche örtliche P_{O_2} - Erniedrigung hervorrufen wird. Günstig für diesen Zweck sind deshalb Mikroelektroden, deren Durchmesser nicht weit über einem Mikron liegt.

Die Messempfindlichkeit im Gewebe soll konstant bleiben, und die Oberfläche der Elektrode muß vor einer Verschmutzung durch Eiweißablagerungen geschützt werden. Diese würde zu einer Veränderung der Eichkurve führen. Die Elektrodenoberfläche wird deshalb mit einer geeigneten Kunststoffmembran überzogen.

2) Die Konstruktion der Elektrode:

Grundlage eines von uns neu entwickelten Verfahrens zur vereinfachten Herstellung von reproduzierbaren Mikroelektroden sind mit Glas überzogene Golddrähte. Diese wurden nach einem von NIXDORF (1967) verbesserten Taylorverfahren (TAYLOR, 1924) hergestellt. Dabei wird ein mit Goldstaub gefülltes Glasröhrchen in eine Zone hoher Temperatur gebracht, wo das Gold schmilzt und das Glas so viskös wird, daß es ausgezogen werden kann. Das Ausziehen erfolgt mit hoher Geschwindigkeit, und der Durchmesser des Goldglasdrahtes wird bestimmt durch das Verhältnis von Ausziehgeschwindigkeit zu Nachschubgeschwindigkeit des mit Goldstaub gefüllten Glasrohres.

Die glasisolierten Golddrähte werden in 1 - 2 cm lange Stücke zerschnitten. Diese Stücke werden in einem Plastikröhrchen in schnellhärtendem Kunststoff (Technovit 4071, Standardpulver und Lösung UNV, Fa. Kulzer u. Co, Bad Homburg v.d.H.) eingebettet, schräg angeschliffen (Abb. 2 a) und durch Aceton wieder herausgelöst. So erhält man viele sauber geschliffene Elektrodenspitzen aus einer Goldglasfaser, die alle die gleiche messende Oberfläche haben.

Unter dem Mikroskop wird jede Elektrodenspitze an ihrem ungeschliffenen Ende mit einem Leitungsdraht in Kontakt gebracht und mit Silberleitlack (Auromal 37 M, Doduco-Kg, Pforzheim) angeklebt. Elektrodenspitze und Leitungsdraht werden in eine

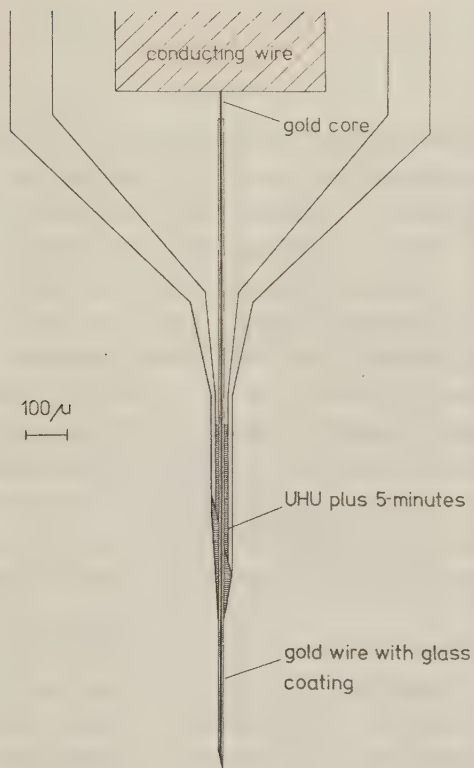


Abb. 2 a: Konstruktionsschema einer Goldmikroelektrode

Die an ihrer Spitze schräg angeschliffene Gold-Glasfaser ist in einer ausgezogenen Glaskapillare an dem Leitungsdraht befestigt und mit einem Zweikomponentenkleber fixiert.

2 b: Lichtmikroskopische Aufnahme einer angeschliffenen Gold-Glasfaser.
Durchmesser der Elektrodenspitze: 2μ .

mit einem Elektrodenpuller (Hersteller: Hampel, Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt) ausgezogene Glaskapillare eingeführt und mit einem schnellhärtenden Zweikomponentenkleber (Uhu-Plus-5-Minuten, Uhu GmbH, Bühl/Baden) fixiert. Die so hergestellten Elektroden (Abb. 2 a) werden im Wärmeschränk bei 80°C gehärtet und anschließend auf ihre elektrische Durchgängigkeit geprüft. Das Aufbringen der Membran erfolgt durch Eintauchen in die jeweilige Kunststofflösung und anschließendes Trocknen bei 80°C über 2 Stunden. Wiederholtes Eintauchen ergibt dickere Membranen.

Wir verwendeten als Membranmaterial Polystyrol (Fa. Merck AG, Darmstadt), Silikon-Kautschuk (Fa. Merck AG, Darmstadt) und Primal AC 35 (Fa. Röhm u. Haas, Darmstadt). Lichtmikroskopische Kontrollen zeigen bei Primal AC 35 und Polystyrol homogene gleichmäßige Überzüge über die ganze Elektroden spitze. Silikon - Kautschuk neigt besonders bei sehr feinen Elektroden zur Bildung von Tröpfchen auf der Elektroden spitze (vgl. S. 15) und überzieht damit die Elektrodenoberfläche nicht vollständig (s. Tab. IV).

Bei erneuten Kontrollen nach 48 Stunden Wässerung der Elektroden in 0,2 mol KCl zeigen Silikon - Kautschuk und Primal AC 35 Membranen keine Veränderungen. Dagegen weisen polystyrolbezogene Elektroden drei Veränderungen auf: 1. Die Membranen erscheinen geschwollen, 2. die Membranen sind trüb (vorher klar durchsichtig), 3. die vorher glatte Oberfläche der Membranen zeigt Unebenheiten (s. auch S. 15).

3) Versuchsaufbau und Verstärker:

In ein mit 0,2 mol KCl - Lösung gefülltes Frittengefäß tauchen Meß- und Gegenelektrode (Ag/AgCl) ein (Abb. 3). Der P_{O_2} der Lösung kann durch Äquibrierung mit Gasen verschiedenen Sauerstoffgehaltes variiert werden. Über ein Potentiometer läßt sich die an die Meßelektrode angelegte Spannung variieren und mit einem Voltmeter kontrollieren.

Der im Meßkreis fließende Strom wird mit einem als Amperemeter geschalteten Meßverstärker gemessen und von einem direktschreibendem Registriergerät aufgezeichnet.

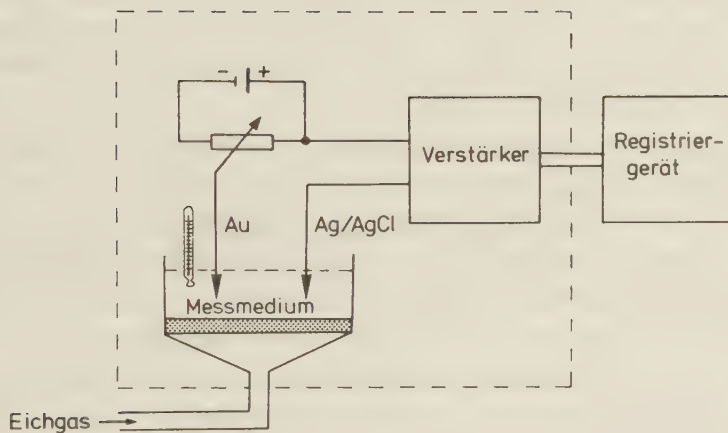


Abb. 3: Versuchsaufbau mit Elektrodensystem, Verstärker und Frittengefäß im Faraday schen Käfig.

In das vom Eichgas durchperlte Meßmedium im Frittengefäß tauchen Meß- (Au) und Referenzelektrode (Ag/AgCl). Eine Spannungsquelle erzeugt die über einen regelbaren Widerstand und den Verstärker angelegte Polarisationsspannung. Das Registriergerät außerhalb des Faraday schen Käfigs ist an den Verstärker angeschlossen.

Um den bei Mikroelektroden sehr geringen Diffusionsgrenzstrom zur Anzeige zu bringen, kam ein hochempfindliches Amperemeter zur Anwendung. Es wird hierzu ein Operationsverstärker mit Feldeffekttransistoreingang (10^{11} Ohm Eingangswiderstand) vom Typ 1009 02 (Fa. Philbrick/Nexus) verwendet. Dieser Operationsverstärker besitzt eine Leerlaufverstärkung von 10^5 , d. h. es genügen 100 Mikrovolt Spannungsabfall am Eingang, um ihn vollständig (bis 10 Volt) auszusteuern.

Der durch den Meßkreis fließende Strom I_E kann wegen des extrem hohen Eingangswiderstandes des Operationsverstärkers (10^{11} Ohm zwischen (-) Eingang und (+) Eingang) praktisch nur über den Widerstand R fließen (Abb. 4). Da im Aussteuerungsbereich des Verstärkers (maximal + 10 Volt am Ausgang) der Spannungsabfall am Eingang höchstens 100 Mikrovolt beträgt, liegt der (-) Eingang nahezu auf Massepotential. Der Spannungsabfall von 100 Mikrovolt ist verglichen mit der Polarisationsspannung im Strommeßbereich so gering, daß die Polarisationsspannung nahezu vollständig an der Elektrode anliegt (KUNKE, 1972). Die am Widerstand R anliegende Spannung ist mit der Ausgangsspannung identisch. Da I_E über R fließt, ergibt sich nach dem Ohm schen Gesetz U_A aus dem Spannungsabfall über R:

$$|U_A| = I_E \cdot R$$

oder, da es sich um eine invertierende Verstärkerschaltung handelt:

$$U_A = -I_E \cdot R$$

Der über den Verstärker fließende Strom erzeugt also am Ausgang eine ihm direkt proportionale, belastbare Spannung, mit der ein Registriergerät betrieben werden kann. Als Widerstand R wurden für die verschiedenen Meßbereiche umschaltbare Widerstände von 10 Megaohm, 100 Megaohm und 1 Gigaohm verwendet.

4) Versuchsdurchführung:

Die Elektroden werden vor der Anwendung für 24 Stunden in luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung bei geschlossenem Stromkreis, unter Anlegen einer Polarisationsspannung von -1050 mV, stabilisiert.

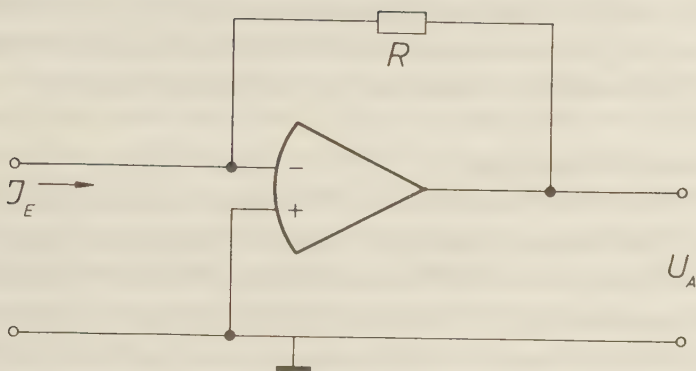


Abb. 4: Verstärkerschaltbild.

Der durch den Meßkreis fließende Strom I_E kann wegen des extrem hohen Eingangswiderstandes des Operationsverstärkers fast nur über den Widerstand R fließen. Die am Widerstand R anliegende Spannung ist mit der Ausgangsspannung U_A identisch.

Mit Hilfe des oben beschriebenen Meßsystems haben wir die Elektroden in speziellen Versuchsverfahren auf ihr Stromspannungsverhalten, die Reproduzierbarkeit ihrer Meßwerte, die Konvektionsabhängigkeit, die Langzeitkonstanz, den Temperatureinfluß, eine eventuelle pH-Abhängigkeit und ihre Einstellzeit untersucht.

a) Aufnahme der Polarogramme:

Die Stromspannungskurve wurde bei 17 blanken und membranbezogenen (Primal AC 35) Elektroden aus Gold und 9 platinieren Goldelektroden aufgenommen, außerdem vergleichsweise bei 10 Platinmikroelektroden (CATER und SILVER, 1961). Die Strommessung erfolgte bei Zimmertemperatur in luftgesättigter 0,2 mol KCl-Lösung sowie im Gehirngewebe in vivo (Rattencortex). Das Einstellen der jeweiligen Spannungsänderung geschah kontinuierlich über einen als Integrator geschalteten Operationsverstärker (Motorola - Co, 1741 CG). Der Meßbereich lag zwischen + 500 und - 1500 mV. Die Gesamtdauer der Spannungsänderung von 0 bis - 1500 mV dauerte 30 Minuten.

b) Reproduzierbarkeit der Meßwerte:

Beide Elektroden (Meß- und Referenzelektrode) wurden in eine im Frittengefäß befindliche 0,2 mol KCl - Lösung getaucht und der Stromkreis geschlossen. Als Eichgase verwendeten wir nach SCHOLANDER (1947) analysierte N_2-O_2 Gemische und Luft. Das Einleiten der Eichgase durch die Fritte in das Frittengefäß dauerte so lange, bis der Diffusionsgrenzstrom konstante Werte erreicht hatte. Die Kontrolle der Gasstromgeschwindigkeit erfolgte mit Hilfe eines Rotameters (Fa. Rota, Dr. Hennig KG, Apparate und Maschinenbau, Oeflingen). Der Volumenfluß aller Gase war pro Zeiteinheit gleich. Der Eichvorgang mit den vier Eichgasen erfolgte 10 mal in 4 - 6 Stunden. Während dieser Zeit hatte sich die Zimmertemperatur um bis zu $0,5^{\circ}C$ geändert, d. h. die Änderung war so gering, daß sie bei der Auswertung nicht berücksichtigt werden mußte (s. S. 18).

c) Konstanz der Meßwerte:

Bei der Anwendung von Mikroelektroden zur P_{O_2} - Messung ist neben der Meßwertereproduzierbarkeit die Konstanz der Elektrodenanzeige von großer Bedeutung.

Veränderungen der Elektrodenempfindlichkeit innerhalb der Gesamtmessung beeinträchtigen die Verlässlichkeit des Meßergebnisses.

Zur Beurteilung von Empfindlichkeitsänderungen über längere Zeiträume haben wir 20 unausgewählte mit Primal AC 35 bezogene Mikroelektroden (Konvektionsabhängigkeit unter 10 %) über drei Tage getestet. Die Messungen erfolgten in luft-gesättigter 0,2 mol KCl - Lösung, bei $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, unter einer Polarisationsspannung von - 1050 mV und unter kontinuierlicher Registrierung des Diffusionsgrenzstromes.

Zur Vermeidung von Veränderungen des Meßmediums durch Verdunstung, ersetzten wir alle 12 Stunden die 0,2 mol KCl - Lösung im Meßgefäß.

d) Einfluß der Konvektion:

Blanke Elektroden zeigen mit Zunahme der Konvektion im Medium auch eine Zunahme der Anzeige, ohne daß sich der P_{O_2} ändert. Diese Konvektionsabhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes läßt sich durch Verwendung geeigneter Membranen auf ein Minimum reduzieren. Die Effektivität des Membranbezuges kann am einfachsten aus der Abnahme der Konvektionsabhängigkeit nach Membranbezug beurteilt werden.

Konvektion wird im Frittengefäß durch Einleiten eines Gases - hier durch das Eichgas - in die Meßlösung erreicht. Die Lösung wird in Abhängigkeit von der Gasstromgeschwindigkeit unterschiedlich stark gerührt. Alle Messungen fanden im gleichen Frittengefäß in 0,2 mol KCl - Lösung bei 20°C und bei konstanter Gasstromgeschwindigkeit statt, die so gewählt war, daß eine maximale Konvektion der Eichlösung im Frittengefäß herrschte. Der Gasfluß wurde vor jeder Messung mit Hilfe eines Rotameters kontrolliert und immer wieder auf den selben Wert eingestellt.

Die Konvektionsabhängigkeit wird in prozentualer Abweichung zur Anzeige in ruhendem Medium angegeben. Z. B.:

Anzeige in ruhendem Medium: 10 nA,

Anzeige bei maximaler Konvektion: 18 nA,

Differenz der beiden Werte: 8 nA.

Die Konvektionsabhängigkeit beträgt dann hier 80 % des in ruhendem Medium gemessenen Wertes.

Als Membranmaterial wurden Silikon - Kautschuk, Polystyrol und Primal AC 35 verwendet. Nach Bezug der Elektroden erfolgte eine neue Messung im Frittingefäß zur Überprüfung der Konvektionsabhängigkeit.

e) Registrierung der Einstellzeit:

Zur Messung der Einstellzeit für Mikroelektroden wurde ein Verfahren entwickelt, das die Beobachtung der Stromveränderung bei sehr schnellen P_{O_2} - Sprüngen erlaubt: Dicht über der Oberfläche einer stickstoffgesättigten 0,2 mol KCl - Lösung wird eine Glaskapillare so befestigt, daß ein an ihrem Ende hängender Tropfen luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung sich in einem Abstand von ca. 1 mm von der Lösungsoberfläche befindet (Abb. 5). Durch die Kapillare und den Tropfen luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung hindurch taucht die Referenzelektrode in die stickstoffgesättigte Lösung.

Die Messelektrode befindet sich zunächst in dem Tropfen in der Kapillare und wird dann plötzlich in die mit N_2 gesättigte 0,2 mol KCl - Lösung hineingeführt. So wird an der Elektrode innerhalb von 8 msec ein Sprung von 150 auf 0 mm Hg P_{O_2} erzeugt. Die Messungen erfolgten bei $20^{\circ}C$ mit 29 Elektroden vor und nach Aufbringen der Membran (Primal AC 35).

Der Stromzeitverlauf wurde auf einem Speicheroszillographen (Fa. Hewlett-Packard, Frankfurt, Typ 564) festgehalten und photographiert (Abb. 7). Einen ähnlichen Sprung in umgekehrter Richtung erhält man, wenn die Elektrode plötzlich wieder in den Tropfen in der Kapillare zurückgeholt wird. Bei der Versuchsdurchführung muß darauf geachtet werden, daß es durch Verschieben der Elektrode nicht zu einem Kontakt der beiden Lösungen kommt und daß beim Verschieben der Elektrode eine Flüssigkeitslamelle über der Elektrodenspitze den stets geschlossenen Stromkreis garantiert. War der Abstand zwischen Lösung und Tropfen zu groß, so kann während des Verschiebens eine kurze Unterbrechung des Stromkreises auftreten, und der Diffusionsgrenzstrom verhält sich wie nach Einschalten des Meßkreises mit initialem Stromstärkeabfall, welcher die Einstellzeit überlagert (vergl. S. 26).

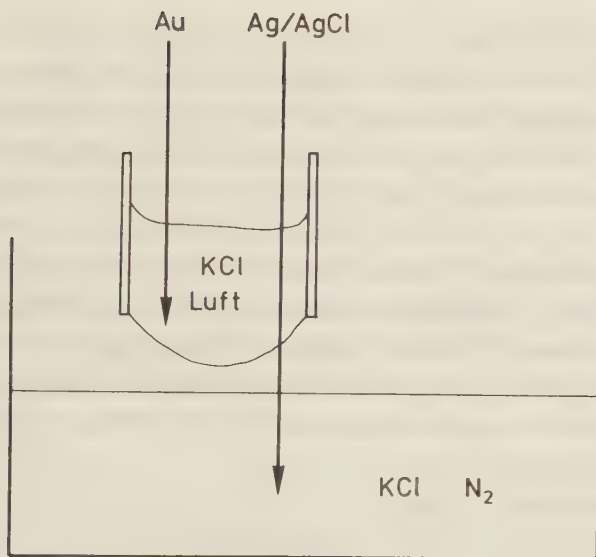


Abb. 5: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Messung der Einstellzeit von Mikroelektroden.

Die Referenzelektrode (Ag/AgCl) taucht durch die Kapillare in die mit N₂ gesättigte Lösung. Die Meßelektrode (Au) wird aus dem luftgesättigten Tropfen in der Kapillare schnell in die N₂ gesättigte Lösung vorgeschoben.

f) Messung des pH - Einflusses:

Der Einfluß des pH auf die Anzeige wurde in luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung untersucht. Die Messungen erfolgten bei zunehmendem pH durch Zugabe von 21,2%iger Na_2CO_3 und bei abnehmendem pH durch Zugabe von 90 %iger Essigsäure über einen Bereich von pH 2 bis pH 20. Die pH- Werte der Lösungen wurden jeweils vor der Messung mit einem pH - Meter (Fa. Knick, Berlin) kontrolliert.

Die verwendeten 13 Elektroden waren mit Primal AC 35 bezogen. Um eventuell auftretende Veränderungen der Membran durch die unterschiedlichen pH - Werte zu erkennen, wurden die Elektroden nach jeder Messung gereinigt und in luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung auf ihre Empfindlichkeit kontrolliert. Eine Veränderung des Diffusionsgrenzstromes und damit eine Beschädigung der Membranen konnte nicht festgestellt werden.

g) Temperatureinfluß auf die Meßwerte:

Den Einfluß der Temperatur auf das Meßergebnis haben wir mit 18 membranbezogenen Elektroden, deren Konvektionsabhängigkeit kleiner als 9,5 % war, in luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung bei Temperaturen zwischen 20 und 46° C gemessen. Die Temperatursprünge betrugen 1° C. Für die Messung befand sich das Meßgefäß, ein kleines Reagenzglas, in einem regelbar thermostatisierten Wasserbad. Die Temperaturen wurden im Meßgefäß unmittelbar neben der Elektrode mit einem geeichten Thermometer kontrolliert.

h) Das Meßverhalten membranbezogener Elektroden in gewebsähnlichen Medien:

In lebendem Gewebe läßt sich bislang keine Sauerstoffeichung von Elektroden durchführen. Zum Testen des Verhaltens in gewebsähnlichen Medien im Vergleich zu der als Eichlösung verwendeten 0,2 mol KCl - Lösung verwendeten wir 20 und 25 %iges Rinderalbumin, 30 %iges Hühneralbumin und Hühnereieiweiß. Eiweißlösungen mit unterschiedlicher Eiweißkonzentration und reine Elektrolytlösungen unterscheiden sich in ihren O_2 - Diffusionseigenschaften.

Die verwendeten Goldmikroelektroden waren mit Primal AC 35 bezogen. Es kamen nur Elektroden mit einer Konvektionsabhängigkeit von weniger als 50 % des in ruhendem Medium gemessenen Wertes zur Anwendung (Berechnung s. S. Die Elektroden wurden nach ihrer Konvektionsabhängigkeit in drei Gruppen von 0 - 10 %, 10 - 30 % und 30 - 50 % des in ruhendem Medium gemessenen Wertes unterteilt.

Vor den Messungen erfolgte eine Äquilibration der gewebsähnlichen Medien über 30 Minuten mit vier verschiedenen Eichgasen ($N_2 - O_2$ - Gemische mit Sauerstoffanteilen von 0; 10,6; 15,5 und 20,85 Vol% O_2).

D. Ergebnisse

Ein einwandfreies Eichverhalten der Elektroden, ein geeigneter Membranbezug und die Ausschaltung aller Störeinflüsse des Mediums sind Grundlagen für Absolutmessungen mit P_{O_2} - Mikroelektroden.

1) Eichverhalten der Elektroden

Das Eichverhalten der Elektroden ist abhängig von den Polarogrammeigenschaften, der Meßwertreproduzierbarkeit und der Meßwertkonstanz.

a) Polarogrammeigenschaften von Mikroelektroden

Das Stromspannungsverhalten von 17 Gold-, 10 Platin- und 9 platinisierten Goldelektroden⁺ wurde in 0,2 mol KCl - Lösung nach Äquilibration mit Luft und in vivo (Rattencortex) geprüft (Tab. I.). Die Messungen erfolgten sowohl mit blanken als auch mit membranbezogenen Elektroden (Primal AC 35), wobei sich kein Einfluß des Membranbezuges auf den Verlauf der Stromspannungskurve (Polarogramm) fand. Die Höhe und Breite des Plateaus war abhängig von der Art des verwendeten Metalls (Tab. I).

⁺Platinierte Goldmikroelektroden werden verwendet, wenn parallel zur O_2 - Messung im Gewebe auch die Durchblutung im Mikrobereich über die H_2 - Clearance bestimmt werden soll (HEIDENREICH, ERDMANN, und METZGER, 1970).

Tab. 1: Spannungsgrenzen, Breite und Steigung des Plateaus im Sauerstoffpolarogramm von 36 Mikroelektroden (Gold-, Platin- und platinisierte Goldelektroden) aufgenommen in 0,2 mol KCl - Lösung und in vivo (Rattencortex):

n Konstruktion	0,2 mol KCl - Lösung	in vivo (Rattencortex)	
	Plateauanfang, -ende, -breite (mV)	Plateau- steigung	Plateau- steigung
17 blanke und membranbe- zogene Goldelektroden	- 800 - 1300 500	Ø/+	+
10 blanke und membranbe- zogene Platinelektroden	- 550 - 900 350	+	+++
9 blanke und membranbe- zogene platinisierte Gold- elektroden	-550 - 800 250	++	+++

Goldelektroden zeigen ein gut ausgeprägtes Polarogramm (Abb. 1) mit einem breiten, steigungslosen Plateau zwischen -800 und -1300 mV. Das Plateau der Platinelektroden begann bei niedrigeren Spannungen und reichte von -550 mV bis -900 mV. Es besitzt in seinem ganzen Bereich eine Reststeigung. Platinierte Goldelektroden wiesen ein den Platinelektroden ähnliches Verhalten auf, wobei das Plateau von -550 mV bis nur -800 mV reichte und die bei den platinieren Gold-elektroden gefundene Reststeigung noch ausgeprägter war.

In vivo (Rattencortex) zeigten Platin- und platinierter Goldelektroden keine typischen Polarogramme, so daß Anfang, Ende und Breite der Plateaus nicht festgestellt werden konnten. Goldelektroden wiesen auch in vivo ein deutliches Polarogrammplateau mit einer geringen Reststeigung auf.

Die für die Eichung und Messung günstigste Polarisierungsspannung entspricht einer mittleren Spannung des Plateaus. Damit wird der gemessene Strom möglichst unanfällig für Spannungsänderungen und sich addierende und subtrahierende externe Störspannungen. Ausschlaggebend für eine gute Stabilität der Messung mit einer geeichten Elektrode ist ein breites Plateau mit möglichst geringer Reststeigung.

Für Goldelektroden liegt nach unseren Ergebnissen die günstigste Polarisierungsspannung bei -1050 mV, das Plateau ist breit und steigungslos. Die Plateaeigenschaften von Platin- und platinierter Goldelektroden sind erheblich ungünstiger (Tab. I., Abb. 1), die günstigste Polarisierungsspannung beträgt bei Platinelektroden -725 mV und bei platinierter Goldelektroden -675 mV.

b) Reproduzierbarkeit der Meßwerte

Die Eichkurven von 15 Goldmikroelektroden wurden auf ihre Reproduzierbarkeit geprüft. Dazu wurde die gesamte Eichung für jede Elektrode 10 mal in 0,2 mol KCl - Lösung mit verschiedenen Gasgemischen wiederholt. In Tabelle II ist eine solche 10-fach wiederholte Eichung für eine beliebig aus den 15 verwendeten Elektroden herausgegriffene Elektrode dargestellt.

Die Goldelektroden zeigten grundsätzlich lineare Eichkurven. Bei Wiederholung der Eichung waren die Abweichungen von der Eichgeraden äußerst gering.

Der mittlere Streuungskoeffizient der 15 untersuchten Elektroden lag bei $1,51 \pm 0,12 \%$. Er war höher bei Elektroden, deren Eichgerade bei Äquilibrierung der Lösungen mit $100\% \text{ N}_2$ nicht durch den Nullpunkt ging. Bei den Elektroden (11 von 15), deren Eichkurven den Nullpunkt des Koordinatensystems schnitten, lag der mittlere Streuungskoeffizient unter 1% (wie im Beispiel der Tab. II).

Bei niedrigen O_2 - Gemischen ist die Streubreite im allgemeinen größer als bei hohen O_2 - Gemischen, was auch für Elektroden gilt, deren Eichgerade den Nullpunkt des Koordinatensystems schneiden (s. Tab. II).

Goldmikroelektroden zeigen nach diesen Untersuchungen eine gute Reproduzierbarkeit der Meßwerte. Für Absolutmessungen eignen sich besonders Elektroden, deren Eichkurve durch den Nullpunkt des Koordinatensystems geht, weil sie die geringste Streubreite aufweisen.

c) Langzeitkonstanz

Eine gute Konstanz der Meßwerte über einen Zeitraum von wenigstens einigen Tagen ist für Langzeitversuche mit Mikroelektroden von besonderer Bedeutung.

Wir haben 20 unausgewählte Elektroden auf ihre Langzeitkonstanz in $0,2 \text{ mol KCl}$ - Lösung bei $20^\circ \text{C} + 0,5^\circ \text{C}$ unter kontinuierlicher Registrierung des Diffusionsgrenzstromes untersucht.

Die Elektrodenanzeige wies dabei langsam ablaufende Oszillationen um den Ausgangswert auf. Die einzelnen Schwankungsphasen dauerten zum Teil über 20 Stunden und zeigten in ihren Kulminationspunkten Abweichungen vom Ausgangswert bis maximal 17% (Abb. 6, Tab. III). Eine ständige Drift zu niedrigeren oder höheren Werten wurde in keinem Versuch registriert.

Die Versuchsreihe zeigte (entsprechend S. 13) eine gute Stabilität der Elektrodenanzeige über kurze Zeiträume mit Veränderungen unter 2% vom Ausgangswert innerhalb von 2 Stunden. Die größte Meßwertveränderung in 8 Stunden belief sich auf 7% vom Ausgangswert (Tab. III).

Tab.II: Meßwertveränderung einer Goldmikroelektrode bei 10maliger Wiederholung

der Eichung mit 4 verschiedenen Eichgasen innerhalb von 4 – 6 Stunden:

Die Abweichungen sind äußerst gering, der mittlere Streuungskoeffizient liegt hier bei 0,96 %.

Eichgase:	N ₂ (100 %)	3,9 Vol% O ₂	10,9 Vol% O ₂	Luft (20,85 Vol%)
1. Eichung	0,0	$0,94 \cdot 10^{-8}$ Amp	$2,65 \cdot 10^{-8}$ Amp	$5,04 \cdot 10^{-8}$ Amp
2. Eichung	0,0	0,94	2,66	5,02
3. Eichung	0,0	0,93	2,64	5,00
4. Eichung	0,0	0,92	2,63	5,01
5. Eichung	0,0	0,91	2,60	5,06
6. Eichung	0,0	0,93	2,61	5,07
7. Eichung	0,0	0,95	2,62	5,07
8. Eichung	0,0	0,93	2,65	5,04
9. Eichung	0,0	0,93	2,67	5,03
10. Eichung	0,0	0,91	2,63	5,03
Summe	0,0	9,29	26,36	50,37
Mittelwert	0,0	0,929	2,636	5,037
Standard - Abweichung	$\pm 0,0$	$\pm 0,0114$	$\pm 0,0220$	$\pm 0,0238$
Streuungs- Koeffizient	$\pm 0,0\%$	$\pm 1,21 \%$	$\pm 0,84 \%$	$\pm 0,47 \%$

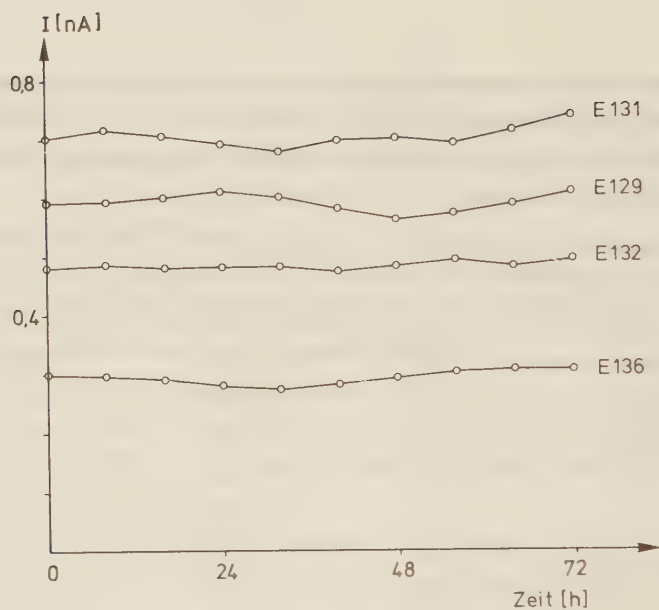


Abb. 6: Langzeitkonstanz von 4 Goldmikroelektroden.

Die Auswertung der Langzeitversuche zeigt oszillatorische Schwankungen ohne Drift mit maximalen Abweichungen bis zu 17 % des Ausgangswertes.

Es wurden die vier Elektroden mit den deutlichsten Oszillationen ausgewählt.

Tab. III: Langzeitkonstanz von 20 Primal AC 35 bezogenen Goldmikroelektroden
in 0,2 mol KCl - Lösung in verschiedenen Zeitabschnitten bei $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

n	Maximale Veränderung der Elektrodenanzeige in % vom Ausgangswert		
	über 72 Stunden	innerhalb von	
		2 Stunden	8 Stunden
1	15,1	0,9	3,5
2	8,0	1,2	3,0
3	10,7	1,4	4,4
4	12,3	0,9	3,6
5	16,1	2,0	7,0
6	7,5	0,9	2,9
7	11,4	1,6	6,3
8	17,0	1,9	6,7
9	6,9	0,7	2,1
10	16,8	1,9	7,0
11	10,3	1,8	5,0
12	14,5	2,0	5,9
13	14,2	0,5	3,8
14	9,7	0,9	3,5
15	7,8	1,1	4,2
16	9,6	0,8	5,1
17	11,9	1,7	4,7
18	5,7	0,5	1,9
19	8,1	1,0	3,8
20	13,5	1,6	5,1

2) Auswirkungen des Membranbezuges auf die Elektrodeneigenschaften

Blanke Elektroden werden mit Membranen überzogen, um die Konvektionsabhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes zu vermindern und gleichzeitig Veränderungen der Meßwertanzeige durch Stoffablagerungen auf der Elektrodenoberfläche zu verhindern. Als Nebeneffekte treten dabei ein Verlust an Empfindlichkeit und eine Verlängerung der Einstellzeit auf.

a) Die Konvektionsabhängigkeit von membranbezogenen Elektroden

Wir haben die Eichung verschiedener Membranen zur Unterdrückung der Konvektionsabhängigkeit unter Berücksichtigung gleichzeitiger Empfindlichkeitsänderungen und Änderungen der Einstellzeit an 275 Goldmikroelektroden untersucht (Tab. IV).

Zur Anwendung kamen: Polystyrol (80 Elektroden), Silikon-Kautschuk (21 Elektroden) und Primal AC 35 (174 Elektroden). Alle Membranen führen zu einer deutlichen Minderung der Konvektionsabhängigkeit (Definition s. S. 9) der Elektroden.

Mit Silikon-Kautschuk lassen sich nur schwer die Elektroden ganz bedeckende Membranüberzüge herstellen wegen der schlechten Haftung auf der Elektrodenoberfläche (s. oben). Die Konvektionsabhängigkeit verringert sich dementsprechend nur wenig gegenüber Polystyrol und Primal AC 35.

Die Verminderung der Konvektionsabhängigkeit geht einher mit einem Verlust an Empfindlichkeit. So vermindert Polystyrol bei einer Konvektionsabhängigkeit unter 10 % die Elektrodenempfindlichkeit um etwa 90 % gegenüber blanken Elektroden. Der Nachteil der Polystyrol - Membranen besteht, wie schon oben (s. S. 6) erwähnt, in der langsamen Eintrübung und Quellung der Membranen mit einer entsprechenden Drift der Elektrodenanzeige.

Primal AC 35 liegt bei gleicher Verminderung der Konvektionsabhängigkeit in der Empfindlichkeitsänderung um 5 - 10 % (Tab. IV) besser, und Silikon-Kautschuk zeigt eine Abnahme der Empfindlichkeit um nur 50 %, wobei aber die Unterdrückung der Konvektionsabhängigkeit wie oben erwähnt, gering ist.

Tab. V: Änderungen der Elektrodeneigenschaften nach Bezug der Elektrodenspitze mit Primal AC 35.

Es sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen von 29 vor und nach Membranbezug getesteten Elektroden angegeben: Die Elektroden sind im gleichen Arbeitsgang aus der gleichen Goldglasfaser angefertigt.

Empfindlichkeit	ohne Membran	mit Membran
$(\text{Amp/mmHg } O_2) \cdot 10^{10}$	$18 \pm 5,7$	$3,1 \pm 0,37$
Konvektionsabhängigkeit (%)	$84 \pm 12 \%$	$8 \pm 1,1 \%$
Einstellzeit (t_{95}) (sec)	$0,34 \pm 0,13$	$2,9 \pm 1,4$

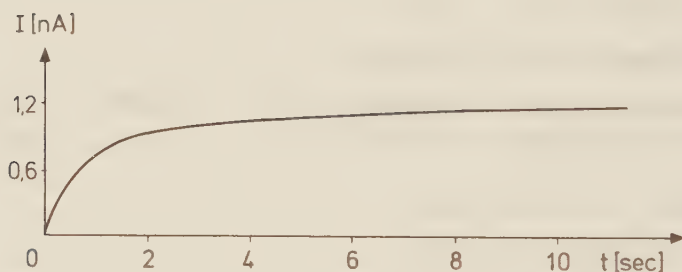
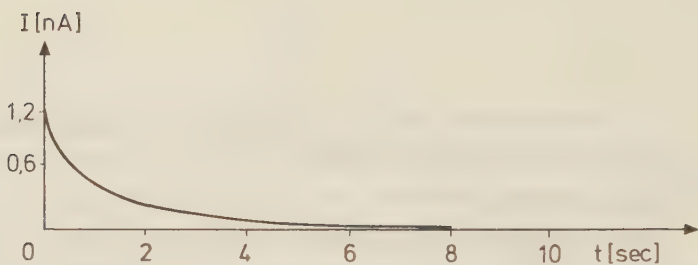


Abb. 7: Registrierung der Einstellzeit mit dem Speicheroszillographen.

Ein Teilstrich entspricht 0,5 sec (Abszisse) und 10 nA (Ordinate). Die verwendete Goldmikroelektrode hatte eine Membran (Primal AC 35)

- a) Die Einstellkurve bei einem Sprung von Luft in N_2 -gesättigte Lösung ($T_{95} = 6 \text{ sec}$) nach Verschieben der Meßelektrode.
- b) Hier ist der gleich anschließend aufgenommene Sprung aus der N_2 - in die Luftgesättigte Lösung durch Zurückziehen der Meßelektrode dargestellt.

Tab. IV: Auswirkungen des Membranbezuges auf Goldmikroelektroden unter
Verwendung verschiedener Membranmaterialien:

Membran	Oberflächen- haftung	Quellung und Trübung	Minderung der Konvektionsab- keit	Minderung der An- zeigenempfindlich- keit
Silikon - Kautschuk	Tröpfchen- bildung	Ø	+	ca. 50 %
Polystyrol	++	++	++	über 90 %
Primal AC 35	++	Ø	++	80 - 90 %

Damit ergibt sich, daß Primal AC 35 am besten als Membranmaterial geeignet ist, da keine Veränderungen der Membranbeschaffenheit auftreten (wie bei Polystyrol), die Unterdrückung der Konvektionsabhängigkeit den Anforderungen entspricht und dabei die Abnahme der Empfindlichkeit nicht den Einstellbereich des Verstärkersystems überschreitet.

b) Die Einstellzeit blanker und mit Primal AC 35 bezogener Goldmikroelektroden

Zur Ausschaltung der Konvektionsabhängigkeit ist eine bestimmte Membrandicke erforderlich, gleichzeitig verlängert sich aber mit zunehmendem Membrandurchmesser die Einstellzeit der Elektrode. Als Einstellzeit bezeichnen wir die Zeit, die nach einer sprungförmigen Änderung des P_{O_2} vergeht, bis 95 % des neuen Wertes angezeigt werden.

Die Einstellzeit von 29 blanken und danach mit Primal AC 35 bezogenen Elektroden wurde bei P_{O_2} -Sprüngen innerhalb von 10 msec von Luft auf 100 % N_2 und von 100 % N_2 auf Luft in 0,2 mol KCl - Lösung bei 20° C gemessen. Die verwendeten Elektroden waren alle aus dem gleichen Goldglasdraht hergestellt und zeigten in blankem Zustand eine mittlere Empfindlichkeit von $1,8 \pm 0,57 \cdot 10^{-9}$ Amp/mmHg P_{O_2} .

Bei allen Elektroden konnte übereinstimmend festgestellt werden, daß die Einstellzeit durch den Membranbezug verlängert wird. So erhielten wir bei den blanken Elektroden eine mittlere Einstellzeit von $0,34 \pm 0,13$ sec. und bei bezogenen Elektroden eine mittlere Einstellzeit von $2,9 \pm 1,4$ sec. (vgl. Tab. V). Der mittlere Konvektionseffekt sank durch das Aufbringen der Membranen von 84 % auf 8 %. Die Empfindlichkeit der blanken Elektrode betrug $1,8 \cdot 10^{-9} \pm 0,57 \cdot 10^{-9}$ A/mmHg und die der bezogenen $3,1 \cdot 10^{-10} \pm 0,37 \cdot 10^{-10}$ A/mmHg.

Auf den in Abb. 7 dargestellten Einstellkurven kann man den für alle Elektroden typischen Einstellvorgang erkennen. Blanke Elektroden zeigten bei Sprüngen von Luft in 100 % N_2 anfangs einen kurzen Anstieg über die Anzeige in luftgesättigten Lösungen hinaus, der durch das plötzliche Vorschnellen der Elektroden als Konvektionseffekt gedeutet werden kann. Ein Überschießen der Stromstärke über den zu erwartenden Wert bei Sprüngen von mit 100 % N_2 gesättigter Lösung in

luftgesättigter Lösung konnte nicht beobachtet werden (vgl. GRUNEWALD, 1971).

Damit lassen sich die Auswirkungen des Membranbezuges zusammenfassen: Durch Anbringen der Membran nimmt der Konvektionseffekt und die Elektrodenempfindlichkeit ab, und die Einstellzeit wird verlängert. Elektroden, deren Membranen den Konvektionseffekt ganz unterdrücken, haben Einstellzeiten bis zu 9 Sekunden.

3) Einflüsse des Meßmediums auf den Diffusionsgrenzstrom von membranbezogenen Goldmikroelektroden

Eine Elektrodeneichung im lebenden Gewebe ist noch nicht möglich. Wir haben deshalb mögliche Zustandsänderungen des lebenden Gewebes in verschiedenen anorganischen und organischen Eichmedien nachvollzogen. Dazu wurden die Einflüsse von pH- und Temperaturveränderungen auf den Meßwert untersucht und Eichungen in verschiedenen Medien durchgeführt.

a) Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes vom pH-Wert des Meßmediums

Bei der elektrochemischen Sauerstoffreduktion an der Elektrodenoberfläche werden Wasserstoffionen verbraucht. Ein Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Diffusionsgrenzstrom ist daher nicht auszuschließen.

Wir haben die pH - Abhängigkeit von 13 Primal AC 35 bezogenen Goldmikroelektroden durch insgesamt 195 Messungen in luftgesättigter 0,2 mol KCl-Lösung bei 20° C untersucht. Der Diffusionsgrenzstrom jeder einzelnen Elektrode wurde bei zunehmendem und abnehmendem pH gemessen (Abb. 8).

Das grundsätzliche Verhalten aller Elektroden entspricht der für eine Elektrode in Abbildung 8 dargestellten Abhängigkeit zwischen pH (Abszisse) und Diffusionsgrenzstrom (Ordinate). Man erkennt, daß zwischen pH 4 und pH 8,5 der Diffusionsgrenzstrom unabhängig vom pH konstant ist. Die Streuung der Meßwerte in diesem Bereich lag innerhalb 2 % des für pH 7 ermittelten Wertes.

Unterhalb von pH $3,1 \pm 0,9$ setzte ein starker Anstieg des Diffusionsgrenzstromes mit großer Streuung der Einzelwerte ein, oberhalb pH $9,8 \pm 1,3$ war ein leichter Anstieg der Meßwerte mit ebenfalls großer Streuung der Einzelwerte zu beobachten.

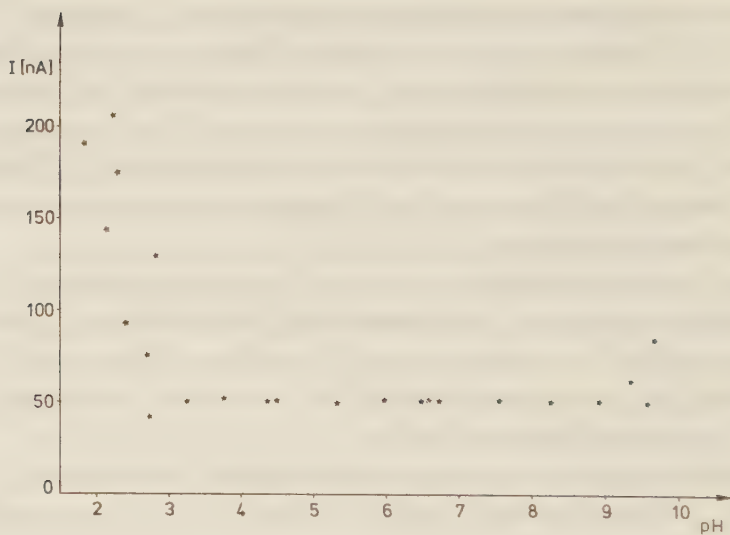


Abb. 8: Registrierung des Diffusionsgrenzstromes in nA in Abhängigkeit vom pH des Meßmediums.

Der Diffusionsgrenzstrom ist von pH 3,2 bis pH 9 unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration des Mediums.

Damit übt die Wasserstoffionenkonzentration erst bei stark sauren oder alkalischen Medien einen Einfluß auf den Diffusionsgrenzstrom aus. Zwischen pH 4 und pH 8,5 ist die P_{O_2} - Messung pH-unabhängig, so daß in lebendem Gewebe pH - Veränderungen keinen Einfluß auf den Diffusionsgrenzstrom haben können.

b) Einfluß der Temperatur auf das Meßergebnis

Da Temperaturänderungen die Diffusionsgeschwindigkeit von Sauerstoff und auch die Reaktionskinetik der Sauerstoffreduktion an der Elektrodenoberfläche beeinflussen, sind entsprechende Auswirkungen auf die Meßwertanzeige zu erwarten.

Die Temperaturabhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes wurde mit 18 membranbezogenen Goldmikroelektroden in luftgesättigter 0,2 mol KCl - Lösung zwischen 20 und 46°C getestet: Alle 18 Elektroden zeigten einen Anstieg des Diffusionsgrenzstromes mit steigender Temperatur und eine lineare Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes (Abb. 9).

Damit kann ein von 20 bis 46°C konstanter Temperaturfaktor berechnet werden. Er gibt das Verhältnis der Strömstärkeänderung (ΔI) zur Temperaturänderung (ΔT) an. Dabei ist die Stromstärkeänderung in Prozent der Stromstärke bei 37°C (I_{37°) ausgedrückt. Der Temperaturfaktor (F) berechnet sich folglich aus:

$$F = \frac{\Delta I \cdot \frac{100}{I_{37^\circ}}}{\Delta T}$$

Der aus den Meßwerten der 18 Elektroden berechnete mittlere Temperaturfaktor beträgt $3,01 \pm 0,22 \text{ }^\circ\text{C}$.

c) Eichung in gewebsähnlichen Medien

Führt man eine Mikroelektrode mit einem Mikromanipulator mehrere 100 Mikron in ein Gewebe hinein, so kann bereits auf dieser kleinen Strecke die unmittelbare Umgebung der Elektrode in ihren Diffusionseigenschaften für Sauerstoff große Veränderungen aufweisen. Der Diffusionsgrenzstrom einer Mikroelektrode, die zur P_{O_2} - Messung in lebendem Gewebe eingesetzt werden soll, muß von diesen Veränderungen unabhängig sein.

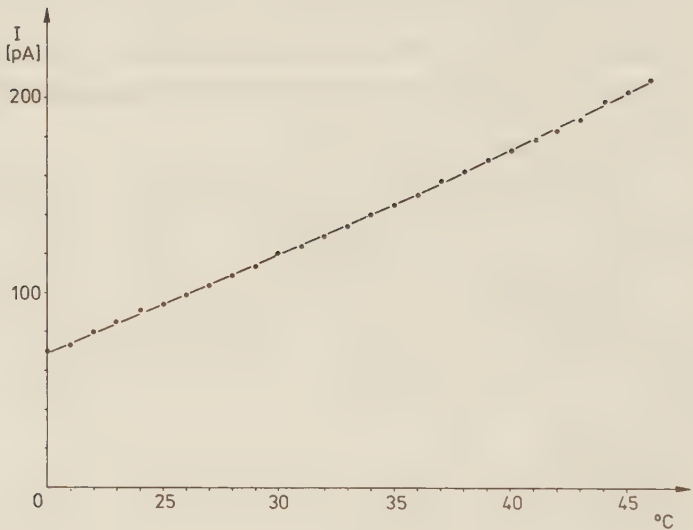


Abb. 9: Temperaturabhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes.

Der Diffusionsgrenzstrom (nA) nimmt linear mit steigender Temperatur zu.
 Der Temperaturfaktor beträgt ca 3 % des bei 37°C gemessenen Wertes pro
 1°C Temperaturänderung.

In lebendem Gewebe ist eine Sauerstoffeichung der Elektrode nicht durchführbar. Zur Beantwortung der Frage, unter welchen Bedingungen die Elektrodeneichung in 0,2 mol KCl - Lösung auch für Messungen in anderen Medien gilt, haben wir deshalb in 0,2 mol KCl - Lösung und in 4, nach Herkunft und Konzentration unterschiedlichen, Eiweißlösungen Messungen bei konstantem P_{O_2} (150 mmHg) gegenübergestellt. Die Konvektionsabhängigkeit der verwendeten 21 Elektroden lag nach Membranbespannung mit Primal AC 35 unter 50 % (Tab. VI).

Mit zunehmender Konvektionsabhängigkeit verstärkt sich die Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes vom Meßmedium. Elektroden der Gruppe I, deren Konvektionsabhängigkeit zwischen 0 und 10 % beträgt, zeigen eine gute Übereinstimmung der Meßwerte in allen Medien. Als Maß der Übereinstimmung der in eiweißhaltigen Medien gemessenen Werte wurde der Streukoeffizient (S_k) für jede Elektrode berechnet. Er beträgt in Gruppe I (Konvektionsabhängigkeit zwischen 0 und 10 %) 0 bis 7,6 %, in Gruppe II (Konvektionsabhängigkeit zwischen 10 und 30 %) 12,1 bis 34,9 % und in Gruppe III (Konvektionsabhängigkeit zwischen 30 und 50 %) 15 bis 42,3 %.

Wird die in 0,2 mol KCl - Lösung erhaltene Eichkurve verwendet, um in eiweißhaltigen Lösungen gemessene Stromstärken in P_{O_2} umzurechnen, so sind die erhaltenen Werte um einen mit zunehmender Konvektionsabhängigkeit der Elektroden wachsenden Fehler kleiner als der wirkliche P_{O_2} . Dieser Fehler wurde durch die Berechnung der Differenz der Meßwerte in 0,2 mol KCl - Lösung und dem Mittelwert der in eiweißhaltigen Medien erhaltenen Meßwerte absolut (abs) und prozentual (proz) zum Meßwert in 0,2 mol KCl - Lösung abgeschätzt (Tab. VI): Diese Differenz beträgt in Gruppe I von 0 - 9,1 %, in Gruppe II von 12,5 - 31 % und in Gruppe III 22,3 - 42,2 %.

Damit dürfen nur Elektroden der Gruppe I zur Messung in eiweißhaltigen Medien verwendet werden, wenn aus der in 0,2 mol KCl - Lösung erhaltenen Eichkurve und den im Medium gemessenen Stromstärken der P_{O_2} des Mediums innerhalb einer Fehlerbreite von 10 % berechnet werden soll.

E. Diskussion zu Teil I

Die Konstruktion von Mikroelektroden hat sich durch die Entwicklung eines neuen Verfahrens, das auf bereits vorgefertigte glasisolierte Golddrähte aufbaut, wesentlich vereinfacht. Gegenüber dem früher meistgebräuchlichen Verfahren von CATER und SILVER (1961) ist es durch Verwendung von Goldglasdrahtstückchen aus einem Draht mit definiertem Durchmesser der messenden Oberfläche erstmals möglich, nahezu reproduzierbare Elektroden herzustellen. Durch Einbetten der Goldglasdrähte in acetonlöslichen glasharten Kunststoff können die Elektrodenspitzen schräg angeschliffen und poliert werden. Damit wird die messende Oberfläche glatt, definiert und außerdem bei kleinstmöglichem Durchmesser des Gesamtdrahtes relativ groß (Abb. 2 a). Daraus resultiert ein größerer Stromfluß und damit ein entsprechender Vorteil bei der Verstärkung. Der Anschleifprozeß kann an beliebig vielen Elektroden gleichzeitig durchgeführt werden, was die Herstellungszeit pro Elektrodenspitze klein hält. Die Ausschußrate bei dieser Herstellungsweise beträgt weniger als 5 % gegenüber 40 - 90 % bei allen anderen erwähnten Verfahren. Der Zeitbedarf für die Herstellung einer Mikroelektrode beläuft sich auf etwa 5 Minuten. Die Herstellung kann von Hilfspersonen übernommen werden. Der Zeitbedarf für eine Elektrodenherstellung nach CATER und SILVER (1961), GULD (1964) oder WHALEN et al. (1967) beläuft sich nach eigenen Messungen unter Berücksichtigung des Ausschusses auf mindestens eine Stunde für eine eingearbeitete Kraft. Außerdem berichteten JAMIESON und van den BRENK (1965) von einer sehr hohen Fragilität von Golddrähten unter 60 Mikron Durchmesser. Mit Glas ummantelte Goldfasern zeigen dagegen ein erstaunlich elastisches und widerstandsfähiges Verhalten.

Die Polarogramme von Goldmikroelektroden haben ein breites steigungsloses Plateau. Dadurch sind Goldmikroelektroden zur P_{O_2} - Messung im lebenden Gewebe sehr gut geeignet, da auch größere Potentialsprünge, wie sie im Gewebe mit bis zu 200 mV auftreten können (CASPER und SPECKMANN, 1970), bei richtiger Einstellung der Polarisationsspannung auf die mittlere Plateauspannung den angezeigten Diffusionsgrenzstrom nicht verändern.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen beobachteten auch LONGMUIR (1953) und WHALEN (1967) Plateaubreiten zwischen 450 und 600 mV ohne Reststeigung. Allerdings liegt bei LONGMUIR (1953) das Plateau zwischen - 350 bis - 900 mV und damit deutlich unterhalb dem von uns beobachteten (- 800 bis - 1300 mV). LONGMUIR (1953) verwendete aber für seine Messungen eine rotierende Goldelektrode mit einer Kalomel-Referenzelektrode und benutzte als Medium eine Mischung von 0,1 mol KCl - Lösung, Phosphatpufferlösung und 1 %iger Glukoselösung.

Auch in vivo zeigen Goldelektroden ein breites und flaches Plateau. Das Plateau der Platinelektroden ist in 0,2 mol KCl - Lösung erheblich schmaler und zeigt außerdem eine deutliche Reststeigung. CLARK, MISRAHY und FOX (1958), SOMMERKAMP und OEHMIG (1962) und KUNZE (1966) berichten von Platinelektroden, daß die Plateaubreite ca. 300 mV beträgt und eine deutliche Reststeigung aufweist (KUNZE, 1966). In vivo ist das Plateau von Platinelektroden überhaupt nicht erkennbar (CLARK, MISRAHY und FOX, 1958, SOMMERKAMP und OEHMIG, 1962, CLARK und SACHS, 1968).

Die Reproduzierbarkeit der Meßwerte ist ein Maß der Verlässlichkeit des Meßergebnisses. Unsere Untersuchungen zeigten bei wiederholten Eichungen in mit 3,9 Vol % O_2 Rest N_2 äquilibrierten 0,2 mol KCl - Lösungen Streuungskoeffizienten von $\pm 1,2\%$. In luftgesättigten Lösungen liegen die Streuungskoeffizienten unter 0,5 % und damit wesentlich günstiger (Tab. II). Diese Werte stimmen mit denen von CHARLTON (1961) $\pm 0,8\%$ bei 150 mmHg P_{O_2} und GLEICHMANN und LUBBERS (1960) $\pm 0,5\%$ ohne Angabe des P_{O_2} überein.

Die Konstanz der Meßwerte über mehrere Tage ist besonders für Versuche mit implantierten Elektroden von großer Bedeutung. Wir haben bei Goldmikroelektroden innerhalb von 72 Stunden nur geringe Oszillationen mit Abweichungen von maximal 17 % des Ausgangswertes festgestellt. Die maximale Änderung innerhalb 8 Stunden beträgt 7 % und innerhalb 2 Stunden 2 %. Die Elektroden zeigten keine Drift zu höheren oder niedrigeren Werten.

Ähnliche Ergebnisse werden von anderen Benutzern der Goldelektrode berichtet: LONGMUIR (1953) stellte einen maximalen Abfall der Anzeige von 5 % des Aus-

gangswertes innerhalb von 3 Tagen fest, die Goldelektroden von JAMIESON und van den BRENK (1965) waren über 64 Stunden stabil, CAREY und TEAL (1965) beobachteten eine Drift von 1 - 2 % pro Stunde, und WHALEN (1967) gibt die Konstanz seiner Goldelektroden mit weniger als 10 % Reduktion des Stromflusses über zwei Wochen an.

Für Platinelektroden messen CHARLTON (1961) eine Drift von 1 % über 4 - 5 Tage mit Oszillationen von $\pm 0,5$ % des Ausgangswertes, FATT (1964) eine Stabilität von + 0,5 %, KUNZE (1966) eine mehrere Stunden und Tage andauernde Stabilität und CLARK und SACHS (1968) eine Drift von weniger als 1 % pro Stunde. Eigene Untersuchungen über die Langzeitdrift bei Pt - Elektroden liegen nicht vor.

Goldelektroden haben keine Drift und eignen sich deshalb zur Implantation in Gewebe. Dabei muß ein Meßfehler bis zu 17 %, der durch die Oszillationen entstehen kann, berücksichtigt werden, wenn die Versuchsdurchführung keine wiederholte Elektrodeneichung erlaubt.

Ein zentrales Problem der intravitalen P_{O_2} - Messung ist die Verfälschung der Anzeige durch Konvektion. Die Konvektion im Meßmedium beeinflusst die Ausdehnung des Diffusionsfeldes und damit die Meßanzeige. Für Gewebsmessungen, bei denen in umschriebenen Gebieten mit sehr unterschiedlichen Konvektionsverhältnissen gerechnet werden muß, sind deshalb unbedingt konvektionsunabhängige Elektroden zu fordern. Die Konvektionsabhängigkeit von Elektroden kann mit einem geeigneten Membranüberzug gedämpft werden.

Die von uns getesteten Membranen (Polystyrol, Silikon-Kautschuk und Primal AC 35) eignen sich grundsätzlich alle zur Vermeidung des Konvektionseffektes. In der Handhabung jedoch hat sich Primal AC 35 am besten bewährt, während bei Silikon - Kautschuk Schwierigkeiten beim Aufbringen der Membran und bei Polystyrol Veränderungen der Membranbeschaffenheit im Laufe der Zeit auftreten.

Als nicht erwünschter Nebeneffekt beim Membranbezug der Elektroden tritt eine Verminderung der Empfindlichkeit und eine Verlängerung der Einstellzeit auf. Die bei CAREY und TEAL (1965) gezeigte Darstellung der Abhängigkeit der Einstell-

zeit von der Membrandicke konnte bei unseren Untersuchungen bestätigt werden. Wie nicht anders zu erwarten, steigt die Einstellzeit mit der Membrandicke an (vgl. auch die theoretischen Untersuchungen von GRUNEWALD, 1971). Dieses Verhalten ist, wie auch FATT (1964) beschrieb, der Grund, Elektroden mit sehr kleinen Oberflächen zu verwenden, damit die Membran zwar zur Unterdrückung der Konvektionsabhängigkeit ausreicht, die Einstellzeit aber nicht wesentlich verlängert wird.

Weitere den Diffusionsgrenzstrom verändernde Größen sind die Temperatur und die Wasserstoffionenkonzentration. Die Meßwertanzeige verändert sich bei Goldmikroelektroden um 3 % des bei 37°C gemessenen Wertes je 1°C Temperaturdifferenz. Dieser Wert ist bei anderen Elektroden ähnlich. So berichten LONGMUIR (1953) von 2 % / °C, GLEICHMANN und LÜBBERS (1960) von 4,5 % / °C, STAUB (1961) 4 % / °C, KUNZE, LÜBBERS und WINDISCH (1962) 2 - 4 % / °C, CAREY und TEAL (1965) 3,5 % / °C, und EVANS und NAYLOR (1966/67) haben 1,5 % / °C gemessen.

Der Ausschluß eines pH - Einflusses auf die Elektrodenanzeige ist von entscheidender Bedeutung: Pro Molekül reduzierten Sauerstoff werden 4 Wasserstoffionen verbraucht. Bei einem Diffusionsgrenzstrom von 10^{-12} A werden in einer Sekunde ca. $2,5 \cdot 10^{-18}$ Mol Sauerstoff reduziert und damit etwa 10^{-17} Mol Wasserstoffionen verbraucht. Eine Elektrode mit $1 \mu^2$ Oberfläche hat in luftgesättigtem Medium einen Stromfluß von etwa 10^{-12} A und nach FATT (1964) einen Einzugsraum von etwa $10 \mu \cdot 10 \mu \cdot 10 \mu = 1000 \mu^3$. Die Zahl der darin vorhandenen Wasserstoffionen beläuft sich bei einem pH von 7 auf 10^{-19} Mol. Es werden also aus dem gesamten Einzugsbereich der Elektrode jede Sekunde das Hundertfache der anfänglich vorhandenen Wasserstoffionen verbraucht. Daraus resultiert eine erhebliche Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration in unmittelbarer Umgebung der Elektrode. Bei diesen Überlegungen handelt es sich jedoch um eine relativ grobe Abschätzung der tatsächlich ablaufenden Vorgänge. Elektrochemische Reaktionen und der Transport von H^+ - Ionen zur Elektrodenoberfläche werden dabei nicht berücksichtigt.

Unsere Untersuchungen zeigten, daß zwischen pH 8,5 und pH 4 kein Einfluß des pH auf den Diffusionsgrenzstrom besteht. CLARK, MISRAHY und FOX (1958)

finden den Diffusionsgrenzstrom in einem pH - Bereich von pH 5 bis pH 9 unabhängig vom pH, STAUB (1961) berichtet, daß der pH erst bei stark sauren Werten einen Einfluß auf das Meßergebnis hat. CLARK und SACHS (1968) führen den starken Anstieg des Diffusionsgrenzstromes im stark sauren Bereich auf eine Verschiebung des Polarogramplateaus zurück.

Membranen haben neben der Eindämmung der Konvektionsabhängigkeit der Elektroden noch den Sinn, durch Begrenzung des Diffusionsfeldes auf den Raum zwischen Elektrodenoberfläche und Membranaußenfläche die Elektrodenmessung unabhängig zu machen von unterschiedlichen Diffusions- und Löslichkeitskoeffizienten in Eich- und Meßmedien.

Eine sehr geringe Änderung der Anzeige durch Wechsel des Meßmediums haben mit Primal AC 35 bezogene Elektroden unter 10 μ Durchmesser. Sind die Membranen so dick, daß die Elektroden extrem konvektionsunabhängig sind (Konvektionsabhängigkeit unter 8 %), so sind die Meßwerte in allen Medien gleich. Ein Übergang z. B. von Hühnereiweiß in 0,2 mol KCl - Lösung ruft keine Änderung des Diffusionsgrenzstromes hervor. Die Einstellzeiten dieser Elektroden betragen zwischen 1 und 5 Sekunden. BÜRGER, LÜBBERS und OCKENGA (1957) beobachteten bei blanken Platinelektroden, daß der Diffusionsgrenzstrom in Ringerlösung stets höher war als der in Proteinlösungen. WHALEN (1967) berichtet, daß seine mit Collodion bezogenen Goldelektroden in 12 %iger Albuminlösung einen um maximal 5 % niedrigeren Diffusionsgrenzstrom anzeigten als in Elektrolytlösungen. Im Hirngewebe zeigten seine Elektroden bis zu 10 % weniger an, als es dem P_{O_2} des Äquilibriumsgases entsprochen hätte.

Schlußfolgerungen

Die Goldmikroelektroden zeigen ein ausgeprägtes Polarogramm mit breitem Plateau und damit Unempfindlichkeit gegenüber externen Störspannungen, eine gute Reproduzierbarkeit ($\pm 1,51$ %) mit einem Streukoeffizienten von $\pm 0,96$ für Elektroden, deren Eichkurve den Nullpunkt des Koordinatensystems schneidet, und eine gute Meßwertkonstanz (keine Drift, 17 % Abweichung in 72 Std.). Ein pH - Einfluß besteht nicht.

Goldmikroelektroden sind zur P_{O_2} - Messung im Gewebe unter folgenden Voraussetzungen zu gebrauchen:

Sie müssen sehr klein sein, um einen geringen Eigenverbrauch zu haben und das Gewebe nicht zu schädigen, und sie müssen mit einer geeigneten Membran bespannt sein zur Vermeidung der Konvektionsabhängigkeit, der Abhängigkeit von unterschiedlichen Diffusionsleitfähigkeitskoeffizienten und zum Schutz der Elektrodenoberfläche vor Eiweißniederschlägen.

Vor der Messung sind folgende Untersuchungen durchzuführen:

- 1) Eichung der Elektroden in 0,2 mol KCl - Lösung bei Körpertemperatur. Die Eichkurve der Elektrode sollte immer durch den Nullpunkt gehen.
- 2) Bestimmung der Konvektionsabhängigkeit nach Membranbezug mit Primal AC 35. Der Rühreffekt muß bei maximaler Konvektion unter 10 % betragen.

Es muß bei Absolutaussagen der gemessenen Werte berücksichtigt werden:

- a) Temperaturänderungen können über einen Temperaturfaktor - d. h. das Verhältnis von Stromstärkeänderung zu Temperaturänderung, wobei erstere in Prozent der bei 37°C gemessene Stromstärke angegeben wird - von $3,01 \pm 0,22\% / ^{\circ}\text{C}$ korrigiert werden.
- b) Die Einstellzeit bei gut bezogenen Elektroden, die maximal 10 Sekunden beträgt. Die Elektrodenanzeige darf also nur jeweils 10 Sekunden nach Einstellen eines neuen P_{O_2} verwertet werden.
- c) Der Unterschied zwischen Eichungen in Elektrolytlösung und in Eiweißlösungen ist abhängig von der Konvektionsabhängigkeit der Elektroden und beträgt bis zu 8 % bei einer Konvektionsabhängigkeit von unter 10 % der in der Elektrolytlösung gemessenen Werte.
- d) Die Veränderung der Elektrodenanzeige kann im Langzeitversuch durch Oszillationen bis zu 17 % des Ausgangswertes betragen. Häufigere Eichungen können diesen Fehler bis auf 2 % herabsetzen.

Unter Berücksichtigung der vorgenannten Punkte muß bei Gewebs - P_{O_2} - Messungen mit Goldmikroelektroden mit einer Gesamtfehlerbreite der Absolutmessung bis zu 20 % gerechnet werden. Diese Fehlerbreite wird durch die Langzeitoszillationen und den Einfluß der unterschiedlichen Diffusionseigenschaften von Eichlösung und Gewebe bestimmt. Durch Einführung von Methoden, die die Bestimmung der Diffusions-

Leitfähigkeit des Meßmediums erlauben, ist es möglich diesen Fehler weiter zu verringern (s. Teil II).

TEIL II: Der Einfluß der O_2 transportbestimmenden Koeffizienten (Diffusions-, Leitfähigkeits-, Löslichkeitskoeffizienten) auf den Diffusionsgrenzstrom

A. Theoretische Grundlagen

Bei Schließen des Stromkreises zu Beginn einer P_{O_2} - Messung mit einer blanken Elektrode fällt eine primäre hohe Stromanzeige auf, die in einer erst schnell, dann langsam abfallenden Kurve sich einem erheblich niedrigeren Endwert angleicht (Abb. 10). Wir können den hier beobachteten zeitlichen Verlauf des Diffusionsgrenzstromes in zwei Teile unterteilen: 1. Eine initiale zeitabhängige Änderung des Diffusionsgrenzstromes mit einem sehr steilen Abfall vom Maximalwert direkt nach Schluß des Stromkreises. 2. Nach ca. 30 Sekunden nähert sich der Diffusionsgrenzstrom einem konstanten Endwert, dem stationären Abschnitt der Kurve.

Anfangs ist die Sauerstoffkonzentration überall, so auch an der Elektrodenoberfläche, gleich groß. Mit Schließen des Stromkreises werden momentan alle O_2 - Moleküle unmittelbar vor der Elektrode reduziert. Dadurch und durch den Aufladestrom der Elektrode selbst wird ein maximaler Stromfluß erreicht. Durch die momentane Reduktion der an der Elektrodenoberfläche befindlichen Moleküle entsteht ein steiles P_{O_2} - Gefälle zur Elektrode hin. Die benachbarten Moleküle diffundieren nach und werden, sobald sie an der Elektrodenoberfläche sind, ebenfalls reduziert. Auf diese Weise bildet sich ein O_2 - Gradientenfeld um die Elektrode herum aus. Je länger sich dieses Feld ausdehnt, umso weiter müssen die O_2 - Moleküle diffundieren, um zur Elektrodenoberfläche zu gelangen. Das bedeutet aber, daß in der Zeiteinheit weniger Moleküle zur reduzierenden Oberfläche nachdiffundieren und die Zahl der verbrauchten Elektronen abnimmt. Dieser Prozeß hält solange an, bis die Ausdehnung des O_2 - Diffusionsfeldes einen Endwert erreicht hat, der durch die Konvektion im Medium bestimmt wird. Jetzt diffundieren in der Zeiteinheit ebensoviele O_2 - Moleküle zur Elektrodenoberfläche nach, wie hier verbraucht werden. Damit ist der zweite Teil des beobachteten Strom-Zeitverlaufes erreicht, und der Diffusionsgrenz-

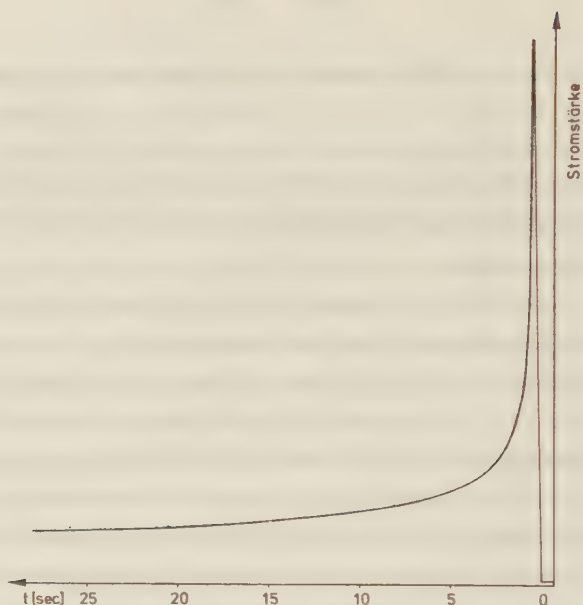


Abb. 10: Originalregistrierung einer Stromzeitkurve, wie sie beim Schließen des Stromkreises beobachtet werden kann mit einer blanken Goldmikroelektrode in 14,8 %iger Rinderserumlösung.

Die Kurve ist von rechts nach links zu lesen. Die zugehörigen Wertepaare sind in Tab. VI zusammengestellt.

Der Diffusionsgrenzstrom verhält sich nach einem initialen Spike umgekehrt proportional zur Zeit und nähert sich nach ca. 20 sec einem konstanten Endwert an.

strom bleibt konstant.

Die Änderung des Diffusionsgefälles in der Zeiteinheit wird allein vom O_2 - Diffusionskoeffizienten (D_{O_2}) bestimmt. Dabei ergibt sich nach dem 2. Fick schen Gesetz, daß die Diffusionszeit reziprok proportional dem D_{O_2} ist unabhängig davon, welche Geometrie des Einzugsraumes vorliegt (vgl. THEWS, 1960).

Dieser Einfluß des Diffusionskoeffizienten auf den Kurvenverlauf (Abb. 10) kann an Hand eines Modells verdeutlicht werden: Dazu diene die Sauerstoffdiffusion durch eine definierte Schicht, z. B. eine Membran. Es soll gelten, daß die O_2 - Konzentration vor der Membran stets gleich bleibt und sich innerhalb und hinter der Membran keine O_2 - Moleküle befinden. Alle O_2 - Moleküle, die hinter der Membran ankommen, sollen sofort gezählt und entfernt werden können, so daß hier die Sauerstoffkonzentration stets Null beträgt.

Mit Beginn der Sauerstoffdiffusion strömen Moleküle in und durch die Membran. Die Zahl der in der Zeiteinheit hinter der Membran ankommenden Moleküle ist jetzt von zwei Membranfaktoren abhängig:

- 1) von dem Widerstand, den das Membranmaterial den diffundierenden Molekülen entgegensetzt und
- 2) von der Zahl der innerhalb der Membran verbleibenden Sauerstoffmoleküle.

Spricht man statt von einem Widerstand von der reziproken Größe, der Leitfähigkeit, so wird hier der Einfluß des Diffusionsleitfähigkeitskoeffizienten (K_{O_2}) deutlich. Die Zahl der innerhalb der Membran verbleibenden Moleküle wird durch den Sauerstofflöslichkeitskoeffizienten (α_{O_2}) bestimmt. Hat sich die Membran auf einen dem α_{O_2} entsprechenden Wert mit Sauerstoff aufgesättigt, so ist die Diffusion durch die Membran allein vom K_{O_2} in der Membran und vom P_{O_2} vor der Membran abhängig.

Der Diffusionskoeffizient D_{O_2} ist nach

$$D = \frac{K}{60 \cdot \alpha_{O_2}} \quad (\text{vgl. THEWS, 1960})$$

dem K_{O_2} direkt und dem α_{O_2} umgekehrt proportional.

Nehmen wir an, daß durch die Elektrode mit dem angeschlossenen Meßsystem O_2 - Moleküle gezählt und eliminiert werden können, dann ergibt sich an Hand des Beispiels, daß der primäre Stromabfall durch D_{O_2} (weil von α_{O_2} und K_{O_2} abhängig) und der spätere Endwert durch den K_{O_2} und den P_{O_2} des Mediums bestimmt wird.

Änderungen des D_{O_2} in einem Medium können nur an dem veränderten Verlauf des primären Anteils der Stromzeitkurve erkannt werden. Änderungen des K_{O_2} müssen angenommen werden, wenn bei konstantem P_{O_2} und Elimination aller anderen Einflüsse wie Temperatur, pH, Konvektion etc. eine Änderung des im stationären Teil eingestellten Endwertes erfolgt. Auf der Basis dieser Überlegungen ergibt sich eine Möglichkeit zur Ermittlung der relativen Größe diffusionsbestimmender Parameter in verschiedenen Medien.

B. Versuchsdurchführung

Nach dem von Kreuzer (1960) angegebenen Verfahren hergestellte luftgesättigte Lösungen von Rinderseren an 8 verschiedenen Konzentrationen dienten als Meßmedien. Die photometrisch bestimmte Gesamteiweißkonzentration dieser 8 Lösungen lag zwischen Null und 21,0 g%. Der Stromzeitverlauf wurde nach Einschalten des Stromkreises mit einem direktschreibenden Registriergerät (Fa. Rikadenki, Tokyo) mit der Einstellgeschwindigkeit von 500 msec über die gesamte Schreibbreite aufgenommen.

Das verwendete Elektrodensystem bestand aus einer Gold- und einer Silber/Silberchlorid - Elektrode. Um Meßfehler durch Proteinniederschläge auf der Oberfläche der blanken Meßelektrode zu vermeiden, wurden die Elektroden durch Spülung in 0,2 mol KCl - Lösung gereinigt und nach jeder Messung erneut in 0,2 mol KCl - Lösung geprüft. Die Messungen erfolgten bei 25°C im ruhenden Medium. Der verwendete Thermostat hatte eine Schwankungsbreite der Temperatur von + 0,05°C.

Zur Bestimmung des Einflusses des K_{O_2} auf den Diffusionsgrenzstrom dienten 10 Gemische unterschiedlicher Glycerinkonzentration (von 0 bis 60 Vol% in 0,2 mol KCl - Lösung). Eine konstante Konvektion des Mediums bewirkte ein

Magnetrührer mit 120 Umdrehungen pro Minute. Die Messungen erfolgten bei 18°C mit einer blanken Goldelektrode und einer Silber/Silberchlorid-Elektrode als Referenzelektrode. Die Messung wurde drei Minuten nach Eintauchen der Elektroden in die Lösung und Einschalten des Stromkreises durchgeführt.

C. Auswertung der Versuche

Die Kurve des Stromzeitverlaufes nach Einschalten des Stromkreises wurde entsprechend der folgenden Beschreibung ausgewertet. Als Meßwerte dienten die im zeitlichen Abstand von jeweils 0,5 sec abgelesenen Stromstärkewerte.

Die Auswertung betrifft den zeitabhängigen Prozeß der Ausbreitung des Diffusionsraumes um die Elektrode, der durch den D_{O_2} des Mediums bestimmt wird.

Als Grundlage dient das durch das 2. Fick'sche Gesetz definierte reziproke Verhältnis zwischen D_{O_2} und der Diffusionszeit. Zur mathematischen Berechnung des Kurvenverlaufes der Einstellkurve fand deshalb die Hyperbelfunktion

$$(1) \quad y = \frac{a}{x} + b$$

Anwendung.

Für x wurde die jeweils nach Beginn der Messung verstrichene Zeit in Sekunden eingesetzt, für y die entsprechende vom Schreiber abgelesene Stromstärke. Aus den so erhaltenen Meßwertepaaren berechnet sich b aus Gleichung

$$(2) \quad b = \frac{x_1 y_1 - x_2 y_2}{x_1 - x_2}$$

Aus den so erhaltenen Werten für b wurden Mittelwert $\bar{b}$ und Standardabweichung b_s berechnet.

Mit dem erhaltenen Mittelwert $\bar{b}$ kann a aus Gleichung (1) berechnet werden

$$(3) \quad a = (y - \bar{b}) \cdot x$$

Wiederum werden Mittelwert $\bar{a}$ und Standardabweichung σ_s von a bestimmt. Die Standardabweichungen b_s und a_s können als ein Maß der Übereinstimmung zwischen dem angenommenen und dem tatsächlichen Kurvenverlauf aufgefaßt werden.

Bei diesem Auswertungsverfahren wird der Kurvenverlauf in Abständen von 0,5 Sekunden analysiert, so daß sich jeder Einzelwert a als Mittelwert einer Reihe von Einzelwerten ergibt, wobei ein Teil der zufälligen Meßfehler eliminiert wird.

D. Ergebnisse

Als Beispiel für die gute Übereinstimmung zwischen dem angenommenen und dem tatsächlichen Kurvenverlauf ist in Tabelle VII eine Originalkurve (Abb. 10) ausgewertet. Die Stromstärke verhält sich reziprok zur Zeit. Aus der Tabelle ist deutlich erkennbar, daß die Hyperbelfunktion auf das Stromzeitdiagramm Anwendung finden kann. Die Hyperbelkonstanten a und b bleiben an jedem Punkt des Kurvenverlaufes gleich. Die Standardabweichungen sind mit 0,16 bzw. 0,09 minimal und auf Auswertefehler zurückzuführen.

Der Einfluß der Eiweißkonzentration in 8 nach KREUZER (1960) hergestellten Lösungen auf den Verlauf der Strom - Zeit - Kurve ist als Ergebnis von 115 Einzelwerten in Abbildung 11 dargestellt, wobei jeder der 115 Einzelwerte nach dem Auswerteverfahren bereits das Ergebnis einer Mittelbildung darstellt. Der berechnete Faktor $\bar{a}$ fällt von einem Ausgangspunkt von 29,9 bei 0 g% Eiweiß bis zu einem Endwert von 19,3 bei 21 g% Eiweiß ab. Es zeigt sich, daß der aus dem Kurvenverlauf jeweils berechnete Faktor $\bar{a}$ mit einem Korrelationskoeffizienten von $R = -0,85$ bei insgesamt 115 Wertepaaren signifikant mit der Eiweißkonzentration der Lösungen korreliert ist (Tab. VIII). Die Sauerstoffdiffusionskoeffizienten in den verwendeten Lösungen sind unter Beziehung auf den von GOLDSTICK (1966) gemessenen D_{O_2} für physiologische NaCl - Lösung als dem Faktor $\bar{a}$ direkt proportionale Größen berechnet worden (Tab. VIII). Dabei liegen die D_{O_2} - Werte von Eiweiß - Lösungen zwischen 2 und $1,26 \cdot 10^{-5}$. Die Diffusionskoeffizienten D_{O_2} nehmen ab mit zunehmender Eiweißkonzentration. Es

Tab. VII: Meß- und Umrechnungstabelle für das in Abbildung 10 dargestellte Stromzeitdiagramm, das bei 25° C in einer 14,8 prozentigen Rinderserumlösung (Herstellung nach KREUZER, 1960) aufgenommen ist.

t ist die Zeit, die vergeht bis nach Schließen des Stromkreises der Diffusionsgrenzstrom abgelesen wird.

b und a sind die in der Hyperbelgleichung verwendeten Konstanten $y = \frac{a}{x} + b$.

Sie werden nach den oben angegebenen Gleichungen aus den zugehörigen Meßwerten berechnet.

t (sec)	$I \cdot 10^8$ (Amp)	$b = \frac{t_1 \cdot I_1 - t_2 \cdot I_2}{t_1 - t_2}$	$a = t \cdot (I - b)$
0,5	nicht ablesbar		
1	27	9,0	18,0
1,5	21	9,0	18,0
2	18	9,0	18,0
2,5	16,2	9,0	18,0
3	15	9,0	18,0
3,5	14,1	8,7	17,85
4	13,5	9,3	18,0
4,5	13,05	8,85	18,23
5	12,6	9,0	18,0
Summe		80,85	162,08
Mittelwert		$b = 9,0$	$\bar{a} = 18,0$
Standardabweichung		$\pm 0,16$	$a_s = \pm 0,09$

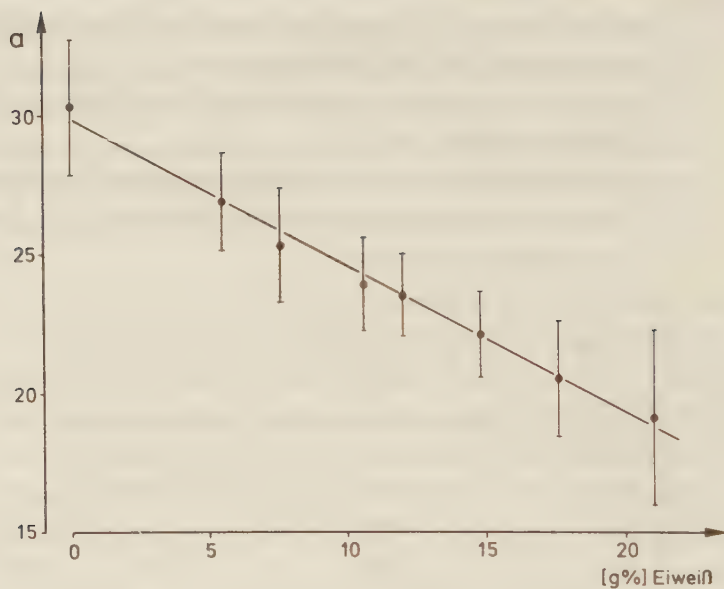


Abb. 11: Ergebnis der Auswertung von 115 Strom - Zeit - Kurven.

Berechnet wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen des Faktors a in Abhängigkeit von der Eiweißkonzentration der verwendeten Rinderserumlösung. Eine signifikante Abnahme des Faktors a mit zunehmender Eiweißkonzentration ist deutlich zu erkennen. Die zugehörigen Daten sind in Tab. VIII zusammengestellt.

Tab. VIII: Abhängigkeit des Sauerstoffdiffusionskoeffizienten (D_{O_2}) von der Eiweißkonzentration des Mediums im Vergleich zu den von KREUZER (1950) erhaltenen Werten.

$\bar{a}$ ist der Mittelwert von n aus den Stromzeitdiagrammen berechneten Konstanten a.

a_s ist die zugehörige Standardabweichung und

n die Anzahl der Messungen.

Für die Berechnung der Diffusionskoeffizienten wurde der von GOLDSTICK (1966) angegebene Wert mit $2,0 \cdot 10^{-5} \left(\frac{\text{cm}^2}{\text{sec}} \right)$ für physiologische NaCl - Lösung zugrunde gelegt. Die in der Tabelle aufgeführten Diffusionskoeffizienten lassen sich aus

$$D_{O_2} = \frac{2,0 \cdot 10^{-5}}{30,3} \cdot \bar{a}$$

berechnen.

Die aus dem Verlauf der Strom-Zeitkurven erhaltenen O_2 -Diffusionskoeffizienten (D_{O_2}) nehmen mit zunehmender Eiweißkonzentration von $2,0 \cdot 10^{-5}$ auf $1,26 \cdot 10^{-5} \left(\frac{\text{cm}^2}{\text{sec}} \right)$ ab.

n	Eiweißkonzentration (g%)			KREUZER (1950)	
		$\bar{a}$	a_s	$D_{O_2} \cdot 10^5$ $\left(\frac{\text{cm}^2}{\text{sec}} \right)$	$D_{O_2} \cdot 10^5$ $\left(\frac{\text{cm}^2}{\text{sec}} \right)$
19	0	30,3	± 2,5	2,0	1,89
10	5,5	26,9	± 1,8	1,77	
10	7,6	25,3	± 2,1	1,69	
	8,5				1,82
19	10,6	23,9	± 1,7	1,58	
9	12,0	23,5	± 1,5	1,55	
19	14,8	22,1	± 1,6	1,48	
	16,0				1,55
10	17,6	20,5	± 2,1	1,35	
	20,0				1,26
19	21,0	19,1	± 3,2	1,26	

zeigt sich, daß die mit Mikroelektroden ermittelten Sauerstoffdiffusionskoeffizienten mit den auf andere Weise gemessenen D_{O_2} - Werten übereinstimmen (vgl. KREUZER 1971).

Der zeitlich konstante Diffusionsgrenzstrom wurde in 10 Lösungen mit unterschiedlicher Glycerinkonzentration von 0 bis 60 Vol% bei einem P_{O_2} von 150 mm Hg ermittelt. Wiederholt durchgeführte Messungen zeigten identische Werte. Es fiel auf, daß mit zunehmender Glycerinkonzentration der Diffusionsgrenzstrom von einem Anfangswert von 23 nA in reiner 0,2 mol KCl - Lösung auf einen Endwert von 8,7 nA in 60 % Glycerin - KCl - Lösung abfällt (Abb. 12, Tab. IX). Der mit zunehmender Glycerinkonzentration sinkende Diffusionsgrenzstrom wird deshalb auf eine Abnahme des Diffusionsleitfähigkeitskoeffizienten K_{O_2} des Mediums zurückgeführt.

Die Messung der O_2 - Diffusionskoeffizienten dieser Glycerin - KCl - Lösungen erfolgte durch die Beurteilung der initialen Stromzeitkurven. Es zeigte sich, daß eine Veränderung der Glycerinkonzentration keinen Einfluß auf den O_2 - Diffusionskoeffizienten in den verwendeten Glycerin - KCl - Lösungen hat.

E. Diskussion zu Teil II

Der unmittelbar nach Schließen des Stromkreises beobachtete Strom - Zeit - Verlauf kann auf zwei Ursachen zurückgeführt werden: Das Aufladen der Elektrodenkapazität führt zu einem initialen Stromfluß, und der Aufbau des Diffusionsfeldes bestimmt das Verhalten des Diffusionsgrenzstromes bei der asymptotischen Annäherung an den Endwert.

Der zur Aufladung der Elektrodenkapazität verbrauchte Strom konnte mangels einer geeigneten elektronischen Anlage nicht gemessen werden. Setzt man aber voraus, daß bei jedem Einschalten die gleiche Kapazität aufgeladen wird, so ist zu erwarten, daß sich dieser Fehler bei Vergleichsmessungen nicht auf das Meßergebnis auswirkt. KUNZE und Mitarbeiter (1962) verwendeten sogar eine Elektrode im Impulsbetrieb und

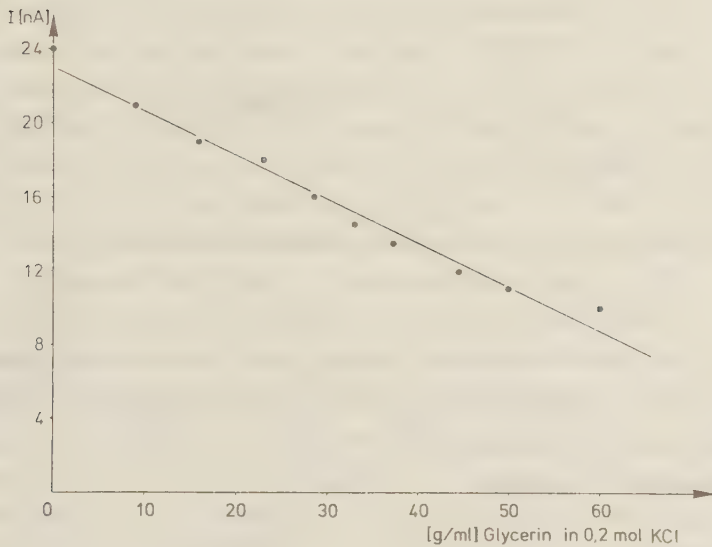


Abb. 12: Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes von der Glycerinkonzentration des Mediums.

Ordinate: Diffusionsgrenzstrom in nA,

Abszisse: Glycerinkonzentration in g/ml

Mit zunehmender Glycerinkonzentration nimmt der nach 30 sec abgelesene Diffusionsgrenzstrom ab. Dieses Ergebnis zeigt die Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes vom Diffusionsleitfähigkeitskoeffizienten des Mediums. Die zugehörigen Wertepaare sind in Tab. IX dargestellt.

Tab. IX: Vergleich der aus den Meßwerten (I) berechneten O_2 -Diffusionsleitfähigkeitskoeffizienten ($K_{O_2} (I)$) mit den aus der Literatur (GMELIN, 1958) berechneten O_2 -Diffusionsleitfähigkeitskoeffizienten ($K_{O_2} (G)$) in Lösungen unterschiedlichen Glyceringehaltes.

Zur Berechnung von $K_{O_2} (I)$ diene die Gleichung:

$$K_{O_2} (I) = \frac{K_{O_2} (H_2O)}{I (I)} \cdot I (n)$$

Zur Berechnung von $K_{O_2} (G)$ diene die Gleichung

$$K_{O_2} (G) = \alpha_{O_2} \cdot D_{O_2} (H_2O) \cdot 60$$

Die Werte des Diffusions- und Leitfähigkeitskoeffizienten sind mit

$$D_{O_2} (H_2O) = 2,0 \cdot 10^{-5} \text{ und } K_{O_2} (H_2O) = 3,7 \cdot 10^{-5}$$

aus der Arbeit von THEWS (1960) entnommen. Die O_2 -Löslichkeitskoeffizienten sind in GMELIN (1958) für Glycerin-Wasser-Lösungen bei $15^\circ C$ angegeben.

n	Glycerin- konzentra- tion [g/ml]	O_2 -Löslichkeits- koeffizient $\left[\frac{cm^3 \cdot O_2}{cm^3 \cdot atm} \right]$	I [nA]	$K_{O_2} (I) \cdot 10^5$ $\left[\frac{cm^3 \cdot O_2}{cm \cdot min \cdot atm} \right]$	$K_{O_2} (G) \cdot 10^5$ $\left[\frac{cm^3 \cdot O_2}{cm \cdot min \cdot atm} \right]$
1	0		23,5	3,7	
2	9,1		21	3,2	
3	16,7		19	3,0	
4	20,5	0,0274			3,3
5	23,0		18	2,8	
6	25,0	0,0252			3,2
7	28,6		16	2,5	
8	33,3		14,5	2,3	
9	37,3	0,0202			2,4
10	37,4		13,5	2,1	
11	44,5		12	1,9	
12	45	0,0174			2,1
13	50		11	1,7	
14	52	0,0157			1,9
15	60		10	1,07	

erhielten damit reproduzierbare Resultate.

Sieht man nun in der Ausbreitung des Diffusionsfeldes den die Kurve entscheidend beeinflussenden Vorgang, so muß der Kurvenverlauf nach dem 2. Fick'schen Gesetz durch den Sauerstoffdiffusionskoeffizienten D_{O_2} bestimmt werden. Das hier abweichend von THEWS (1960) gewählte Auswerteverfahren ist dadurch begründet, daß bei der Elektrode stets ein P_{O_2} von Null Torr angenommen werden darf, während in der THEWS'schen Diffusionskammer eine Rückverteilung von O_2 -Moleküle einsetzt. Daher kommt bei der Ausbildung des Diffusionsfeldes um die Elektrode die reziproke Proportionalität zwischen D_{O_2} und der Zeit in der Einstellkurve zum Ausdruck.

Die Abhängigkeit der die Einstellkurve bestimmenden Faktoren von der Eiweißkonzentration und damit dem D_{O_2} der verwendeten Medien ist signifikant (Abb. 11). Korrelationskoeffizient $R = -0,85726$ bei 115 Wertepaaren. Damit ist der Einfluß des D_{O_2} im Medium auf den Einstellvorgang deutlich. Bei der P_{O_2} -Messung im Gewebe muß also abgewartet werden, bis sich die Elektrode voll eingestellt hat, was bisher auch üblich war (KREUZER, 1960, u.a.). Neben dieser Forderung ergibt sich die Möglichkeit, auf diese Weise den noch unbekannten D_{O_2} im Mikrobereich des Gewebes zu bestimmen.

Für die absolute P_{O_2} -Messung ist der Einfluß des Sauerstoffleitfähigkeitskoeffizienten K_{O_2} von Bedeutung. Geht man von der oben angeführten Voraussetzung aus, daß der Diffusionsgrenzstrom im zeitkonstanten Kurvenbereich durch den P_{O_2} und den K_{O_2} beeinflusst wird, so ist das früher oft diskutierte Problem, ob blanke Elektroden P_{O_2} oder Sauerstoffkonzentration messen, (CHARLTON, 1961) hinfällig. Entscheidend ist, daß neben P_{O_2} nicht allein die Sauerstofflöslichkeit, sondern auch die Sauerstoffleitfähigkeit des Mediums, die auch als Produkt aus D_{O_2} und α_{O_2} aufgefaßt werden kann, das Maßergebnis beeinflusst (vgl. auch FATT, 1964). Dieser Einfluß wird durch die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen in Glycerin - KCl - Lösungen bestätigt:

Unter der von uns gefundenen Bedingung, daß der D_{O_2} von der Glycerinkonzentration nicht beeinflusst wird, gelingt es aus den bei GELIN (1958) ange-

gegebenen Werten für α_{O_2} von Glycerin - Wassergemischen durch
Multiplikation mit $D_{O_2} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ nach

$$K = D \cdot \alpha \cdot 60$$

die K_{O_2} - Werte für Glycerin - Wasser - Lösungen zu berechnen. Der Vergleich dieser Werte (Tab. IX) ergibt eine relativ gute Übereinstimmung mit den gemessenen Werten. Die Unterschiede können auf die unterschiedliche Meßtemperatur (GMELIN 15°C hier 18°C) und das Lösungsmittel (GMELIN H_2O , hier $0,2 \text{ mol KCl}$) zurückgeführt werden.

Daraus wird die schon häufig gestellte Forderung nach Membranen mit im Verhältnis zum Medium sehr kleinen K_{O_2} - Werten (FATT, 1964, ua.) erneut deutlich. Der Einfluß des K_{O_2} auf den Diffusionsgrenzstrom, der im Gewebe oft sehr unterschiedlich sein kann, muß auf ein Minimum reduziert werden. Bei Testen der Membraneigenschaften in Glycerin - Lösung muß aber beachtet werden, daß möglicherweise im Gewebe K_{O_2} - Werte auftreten, die noch kleiner als die der verwendeten Lösungen sind. Durch die Diffusionsgrenzstrommessung mit konvektionsunabhängigen membranbespannten Elektroden kann in Lösungen mit bekanntem K_{O_2} , die membranbedingte Abhängigkeit der Elektrodenanzeige von K_{O_2} Änderungen getestet werden. Wir empfehlen dazu, die fertige Elektrode in $0,2 \text{ mol KCl}$ - Lösung und 60% Glycerin - Lösung auf die Übereinstimmung des Diffusionsgrenzstromes bei gleicher Temperatur und P_{O_2} zu prüfen, wenn der K_{O_2} der verwendeten Membran nicht bekannt ist.

Man kann die beiden Verfahren, die hier zur Testung der Einflüsse auf die P_{O_2} - Messung benutzt wurden, auch zur Ermittlung unbekannter Diffusionsgrößen verwenden. So können der D_{O_2} im Gewebe und der K_{O_2} in Lösungen mit bekannten P_{O_2} bestimmt werden. Zur Bestimmung des K_{O_2} im Gewebe müßte neben einer membranbezogenen K_{O_2} unempfindlichen Elektrode, die den P_{O_2} mißt, eine blanke K_{O_2} und P_{O_2} empfindliche Elektrode verwendet werden. Mit einem solchen System kann dann am gleichen Ort im Gewebe gleichzeitig P_{O_2} , D_{O_2} , K_{O_2} und durch Berechnung auch α_{O_2} bestimmt werden. Damit besteht mit der Entwicklung einer solchen Methode die

Möglichkeit, alle die den Sauerstofftransport bestimmenden Faktoren im Mikrobereich am gleichen Ort zu analysieren.

Zusammenfassung

Die zunehmende Anwendung von polarographisch messenden Mikroelektroden zur Beurteilung der Sauerstoffversorgung von lebendem Gewebe erfordert eine Untersuchung der Faktoren, die diese P_{O_2} - Messung in vivo beeinflussen.

Es wird das Eichverhalten von neu entwickelten, einfach herstellbaren Goldmikroelektroden in Elektrolytlösung und gewebsähnlichen Medien getestet. Die Prüfung umfaßt insbesondere das Strom - Spannungs - Verhalten, die Reproduzierbarkeit, die Langzeitkonstanz, die Auswirkungen des Membranbezuges auf die Konvektionsabhängigkeit, Empfindlichkeit und Einstellzeit, sowie die Einflüsse des Mediums auf den Meßwert, wie sie durch den pH - Wert, die Temperatur und die Diffusionseigenschaften gegeben sind.

Die geprüften Goldmikroelektroden sind durch ein breites, gut ausgeprägtes Strom - Spannungs - Plateau zwischen - 800 und - 1300 mV, eine gute Reproduzierbarkeit mit Streukoeffizienten bis zu $\pm 1,9\%$ und ein driftfreies Langzeitverhalten mit Abweichungen unter 17%, bezogen auf den Ausgangswert, gekennzeichnet.

Der Bezug der Elektrodenoberfläche mit Primal AC 35 unterdrückt die Konvektionsabhängigkeit und verlängert die Einstellzeit von 0,34 sec um das 8-fache auf 2,9 sec. Die damit einhergehende Empfindlichkeitsverminderung um ca. 90% kann durch ein leistungsfähiges Verstärkersystem ausgeglichen werden.

pH - Änderungen des Meßmediums bewirken zwischen pH 4 und pH 8,5 keine Meßfehler. Die Abhängigkeit des Diffusionsgrenzstromes von der Temperatur ist linear und beträgt bei 37°C 3,01% / °C. Änderungen im Eiweißgehalt des Mediums können bei membranbezogenen Elektroden mit einer Konvektionsabhängigkeit unter 8% vernachlässigt werden, führen aber mit zunehmender Konvektionsabhängigkeit zu steigenden Meßfehlern.

Die Auswirkungen der Diffusionseigenschaften auf den Einstellvorgang des Diffusionsgrenzstromes werden methodisch zur speziellen Messung der Diffusionsparameter D_{O_2} , K_{O_2} und α_{O_2} verwendet. Die damit vorgenommene Bestimmung der Diffusionskoeffizienten (D_{O_2}) in Rinderserumlösungen unterschiedlicher Eiweißkonzentration und der Leitfähigkeitskoeffizienten (K_{O_2}) in Glycerin - KCl Gemischen bestätigt die Anwendbarkeit der hier konzipierten Methode.

Diese Ergebnisse lassen folgende Schlußfolgerungen zu: Mikroelektroden sind zur Messung des P_{O_2} im Gewebe verwendbar wenn:

1. in vivo ein deutliches Plateau der Strom - Spannungs - Kurve auftritt, wie dies bei Goldelektroden der Fall ist,
2. die Konvektionsabhängigkeit gering ist ($< 8\%$) und damit die Messung von dem verwendeten Medium unabhängig wird,
3. die Elektrode unabhängig vom pH - Wert ist, wie dies Goldelektroden zwischen pH 4 und pH 8,5 zeigen.
4. Elektrodenmaterial und Bezug Driftfreiheit und gute Konstanz gewährleisten,
5. die Temperaturabhängigkeit der verwendeten Elektrodenart bekannt ist.

Mikroelektroden können neben der Bestimmung des P_{O_2} zur Messung der Diffusionsparameter des Mediums verwendet werden.

Literaturverzeichnis

- BICHER, H. I. and M. H. KNISELY: Brain tissue reoxygenation time, demonstrated with a new ultramikro oxygen electrode.
J. Appl. Physiol. 28, 387 - 390 (1970)
- BÜRGER, H., D. W. LÜBBERS und Th. OCKENGA: Systematische Untersuchungen des P_{O_2} mit der blanken Pt-Elektrode in Ringerlösung, Serum und Blut.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 265, 172 - 180 (1958)
- CAREY, F. G. and J. M. TEAL: Responses of oxygen electrodes to variables in construction, assembly and use.
J. Appl. Physiol. 20, 1074 - 1077 (1965)
- CASPERS, H. and E. J. SPECKMANN: Connections between EEG activity and post-synaptic potentials of spinal motoneurons during convulsions.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 29, 207 - 208 (1970)
- CATER, D. B.: The measurement of P_{O_2} in tissues. In: Oxygen in the animal organism. Hrsg. F. Dickens u. E. Neil, London: Pergamon Press 1964, 239 - 251
- CATER, D. B.: The significance of oxygen tension measurements in tissues.
Ciba Symp. on Oxygen measurements. Hrsg. J. P. Payne u. D. W. Hill, London: Churchill 1966, 155 - 172
- CATER, D. B. and I. A. SILVER: Elektrodes and microelektrodes used in biology.
In: Reference Electrodes, Ed. D. J. G. Ives and J. G. Janz, New York: Academic Press 1961, 464 - 523
- CHARLTON, G. A.: A microelectrode for determination of dissolved oxygen in tissue.
J. Appl. Physiol. 16, 729 - 733 (1961)
- CLARK jr., L. C. and G. SACHS: Bioelectrodes for tissue metabolism.
Annals of the N. Y. Academy of Sciences, 148, 133 - 152 (1968)

- CLARK, jr., L. C., G. MISRAHY, and R. P. FOX: Chronically implanted polarographic electrodes.
J. Appl. Physiol. 13, 85 - 91 (1958)
- DAMASCHKE, K. und E. SALING: Neue Mikro Schnell Methode zur Messung des Blut O_2 auf elektrochemischem Wege.
Klin. Wschr. 39, 305 - 306 (1961)
- EVANS, N. T. S. and P. F. D. NAYLOR: Steady state of oxygen tension in human dermis.
Respiration Physiol. 2, 46 - 60 (1966/67)
- FATT, I.: An ultramicro oxygen electrode.
J. Appl. Physiol. 19, 326 - 329 (1964)
- GLEICHMANN, U. und D. W. LÜBBERS: Die Messung des Sauerstoffdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der Pt-Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 431 - 455 (1960)
- GOLDSTICK, T. K.: Diffusion of oxygen in protein solutions.
Ph. D. Thesis, University of California, Berkeley 1966
- GRUNEWALD, W.: Einstellzeit der Pt-Elektrode bei Messungen nicht stationärer O_2 -Partialdrucke.
Pflügers Arch. 322, 109 - 130 (1971)
- GULD, C.: A glass-covered platinum microelectrode.
Med. Electron. Biol. Eng. 2, 317 - 327 (1964)
- HEIDENREICH, J., W. ERDMANN, H. METZGER and G. THEWS: Local Hydrogen-clearance and P_{O_2} - measurement in micro-areas of the rat brain.
Experientia 26, 257 - 259 (1970)

- GMELINS Handbuch der anorganischen Chemie. Hrsg. Deutsche Chemische Gesellschaft, Weinheim/Bergstr.: Chemie, Nr. 3,446 - 495
- HILL, A. V.: The diffusion of oxygen and lactic acid through tissues.
Proc. roy. Soc. B. 104, 39-82 (1928/29)
- JACOBS, M. H.: Diffusion processes.
Ergebn. Biol. 12, 1 - 25 (1935)
- JAMIESON, D. and H. A. S. van den BRENK: Electrode size and tissue P_{O_2} measurement in rats exposed to air or high pressure oxygen.
J. Appl. Physiol. 20, 514 - 518 (1965)
- KOLTHOFF, J. M. and J. J. LINGANE: Polarographie
New York and London: Interscience Publishers 1952
- KREUZER, F.: Über die Diffusion von Sauerstoff in Serumweißlösungen verschiedener Konzentration.
Acta Helvet. physiol. 8, 505 - 521 (1950)
- KREUZER, F.: Modellversuche zum Problem der Sauerstoffdiffusion in der Lunge.
Habil.-Schrift Basel 1953
- KREUZER, F., E. D. HARRIS jr. and C. G. NESSLER jr.: A method for continuous recording in vivo of blood oxygen tension.
J. Appl. Physiol. 15, 77 - 82 (1960)
- KREUZER, F.: Facilitated diffusion of oxygen and its possible significance. A Review
Respiration Physiol. 9, 1 - 30 (1970)
- KROGH, A.: On the cutaneous and pulmonary respiration of the frog.
Skand. Arch. Physiol. 15, 328 - 419 (1904)
- KROGH, A.: Some new methods for the tonometric determination of gas-tensions in fluids.
Skand. Arch. Physiol. 20, 259 - 278 (1908)

KROGH, A.: On micro-analysis of gases.

Skand. Arch. Physiol. 20, 279 - 288 (1908)

KROGH, A.: On the oxygen metabolism of the blood.

Skand. Arch. Physiol. 23, 193 - 199 (1910)

KROGH, A.: On the mechanism of the gas-exchange in the lungs of the tortoise.

Skand. Arch. Physiol. 23, 200 - 216 (1910)

KROGH, A.: Some experiments on the invasion of oxygen and carbonic oxide into water.

Skand. Arch. Physiol. 23, 224 - 235 (1910)

KROGH, A.: On the combination of haemoglobin with mixtures of oxygen and carbon oxide.

Skand. Arch. Physiol. 23, 217 - 223 (1910)

KROGH, A.: On the mechanism of the gas-exchange in the lungs.

Skand. Arch. Physiol. 23, 248 - 278 (1910)

KROGH, A.: The rate of diffusion of gases through animal tissues, with some remarks on the coefficient of invasion.

J. Physiol. (Lond.) 52, 391 - 408 (1918/19)

KUNKE, St., W. ERDMANN and H. METZGER: A new method for simultaneous P_{O_2} and action potential measurement in microareas of tissue.

J. Appl. Physiol. 32, 436 - 438 (1972)

KUNZE, K.: Eine Kathoderelektrode zur kontinuierlichen Messung des Sauerstoffdruckes.

Pflügers Arch. ges. Physiol. 279, 94 - 97 (1964)

KUNZE, K.: Die lokale kontinuierliche Sauerstoffmessung in der menschlichen Muskulatur.

Pflügers Arch. ges. Physiol. 292, 151 - 160 (1966)

KUNZE, K., D. W. LÜBBERS: Die Absolutmessung des Sauerstoffdruckes mit der Kammer-Pt-Elektrode.

Naunyn-Schmiedebers Arch. esp. Path. Pharmak. 234, 312 - 327 (1962)

- KUNZE, K., D. W. LÜBBERS und E. WINDISCH: Die Messung des absoluten Sauerstoffdruckes mit der Kammer-Pt-Elektrode in beliebigen Medien, insbesondere Blut und Gewebe.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 276, 415 - 428 (1962)
- LONGMUIR, I. S.: Respiration rate of bacteria as a function of oxygen concentration.
J. Biochem. 57, 81 - 87 (1963)
- LÜBBERS, D. W. und K. KUNZE: Kann man den absoluten P_{O_2} im Gehirngewebe mit der Platinelektrode messen?
22. Internat. Physiologenkongress, Leiden 1962, 754, 122 - 128
- LÜBBERS, D. W.: The oxygen pressure field of the brain and its significance for the normal and critical oxygen supply of the brain.
In: Oxygen transport in Blood and Tissues. Hrsg. G. Thieme, Stuttgart, 1968
54 - 83
- NIXDORF, J. : Ein neues Verfahren zur Herstellung dünner Drähte mit Durchmessern im μ m - Bereich.
Draht Welt 53, 696 - 702 (1967)
- OPITZ, E. und M. SCHNEIDER: Über die Sauerstoffversorgung des Gehirns und den Mechanismus von Mangelwirkungen.
Ergebn. Physiol. 246, 126 - 260 (1950)
- OPITZ, E. und G. THEWS: Einfluß von Frequenz und Faserdicke auf die Sauerstoffversorgung des menschlichen Herzmuskels.
Arch. Kreislaufforsch. 18, 137 - 152 (1952)
- ROUGHTON, F. J. W.: Diffusion and chemical reaction velocity as joint factors in determining the rate of uptake of oxygen and carbon monoxide by the red blood corpuscle.
Proc. roy. Soc. Edinb. B 111, 1 - 24 (1932)

- SCHOLANDER, P. F.: Analyzer for accurater estimation of respiratory gases in one-half cubic centimeter samples.
J. Biol. Chem. 167, 235 - 250 (1947)
- SILVER, I. A.: Some observations on the cerebral cortex with a ultramikro, membrane-covered, oxygen electrode.
Med. Electron. Biol. Engr. 3, 377 - 387 (1965)
- SILVER, I. A.: The measurement of oxygen tension in tissues.
Ciba symp. on oxygen measurements. Hrsg. J. P. Payne u. D. W. Hill,
London, Churchill 1966, 135 - 154
- SOMMERKAMP H. und H. OEHMIG: Herzkatheder mit kunststoffbezogenen Platin-
elektroden zur kontinuierlichen Registrierung des P_{O_2} in strömendem Blut.
Klin. Wschr. 40, 1112 - 1113 (1962)
- STAUB, N. C.: A simple small oxygen electrode.
J. Appl. Physiol. 16, 192 - 194 (1961)
- TAYLOR, G. F.: A method for drawing metallic filaments and a discussion of their
properties and uses.
Phys. Rev. 23, 655 - 660 (1924)
- THEWS, G.: Über die mathematische Behandlung physiologischer Diffusionsprozesse.
Dipl. Arbeit Kiel 1950
- THEWS, G. Über die mathematische Behandlung Physiologischer Diffusionsprozesse in
zylinderförmigen Objekten.
Acta biotheor. (Leiden) 10, 105 (1953)
- THEWS, G.: Ein Verfahren zur Berechnung des Sauerstoffdiffusionskoeffizienten aus
Messungen der Sauerstoffdiffusion in Hämoglobin und Myoglobinlösungen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 265, 138 - 153 (1957 a)

- THEWS, G.: Die Sauerstoffdiffusion in der Lunge. Ein Verfahren zur Berechnung der Kontaktzeit und des O_2 - Diffusionsfaktors.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 265, 154 - 163 (1957 b)
- THEWS, G.: Ein Verfahren zur Bestimmung des O_2 - Diffusionskoeffizienten, der O_2 - Leitfähigkeit und des O_2 - Löslichkeitskoeffizienten im Gehirngewebe.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 227 - 244 (1960)
- THEWS, G.: Sauerstoffdiffusion im Gehirn (Ein Beitrag zur Frage der Sauerstoffversorgung der Organe)
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 197 - 226 (1960)
- THEWS, G.: Die Sauerstoffdrucke im Herzmuskelgewebe.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 276, 166 - 181 (1962)
- THEWS, G.: Die theoretischen Grundlagen der Sauerstoffaufnahme in der Lunge.
Erg. Physiol. 53, 42 - 107 (1963)
- TÖDT, F.: Elektrochemische Sauerstoffmessungen.
Berlin: de Gruyter 1958
- WHALEN, W., J. RILEY and P. NAIR: A microelectrode for measuring intracellular P_{O_2}
J. Appl. Physiol. 23, 798 - 801 (1967)
- WOLBARSH, M. L., E. F. MAC NICHOL jr. and H. G. WAGNER: A glass insulated platinum mikroelektrode.
Science 132, 1309 - 1340 (1960)

Herrn Professor Dr. Dr. G. Thews möchte ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit danken, sowie für die Möglichkeit, die Arbeit im Physiologischen Institut der Universität Mainz durchführen zu dürfen.

Herrn Dr. W. Erdmann danke ich für seine ständige Hilfe bei der Durchführung der vorliegenden Untersuchungen.

Außerdem danke ich Frau Diplom - Mathematikerin Müller für die Berechnung der Korrelationskoeffizienten.

Lebenslauf

Am 27. Januar 1947 wurde ich, Wolfgang Krell, als zweiter Sohn des Dipl. Kaufmanns Werner Krell und seiner Frau Erika Krell, geb. Schütz, in Eichenau geboren.

Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Volksschulen in Krefeld-Ürdingen, Nieder-Ober-Weiler, Neuwied und Hettenleidelheim, anschließend war ich bis 1961 Schüler des Neusprachlichen Gymnasiums in Kaiserslautern. Bis zur Reifeprüfung am 25. Februar 1967 besuchte ich das Gutenberg Gymnasium in Wiesbaden.

Vom 1. April 1967 an diente ich in der Bundeswehr und wurde ein Jahr später als Reserve - Offiziersanwärter entlassen. Zum Sommersemester 1968 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg - Universität Mainz für das Studium der Medizin. Die Naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich am 18. März 1968 und die Arztliche Vorprüfung am 25. September 1969 ab. Im Wintersemester 1969 begann ich mit der Arbeit für meine Dissertation am Physiologischen Institut der Universität (Direktor Prof. Dr. Dr. G. Thews).

Am 15. November 1971 trat ich erneut in die Bundeswehr als Sanitätsoffizier ein und wurde zum weiteren Studium beurlaubt.

Seit Sommer 1971 bin ich mit Ute Wendel verheiratet und habe eine Tochter.

